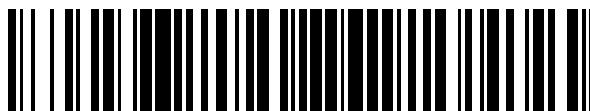


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 538**

51 Int. Cl.:

A61K 36/00 (2006.01)

A61K 36/87 (2006.01)

A61K 35/14 (2015.01)

A61K 35/50 (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.05.2006 PCT/US2006/017118**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.11.2006 WO06119408**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.05.2006 E 06759033 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2017 EP 1888090**

54 Título: **Preparaciones de factor de transferencia y métodos asociados**

30 Prioridad:

02.05.2005 US 677226 P

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

16.03.2018

73 Titular/es:

**4LIFE PATENTS, LLC (100.0%)
9890 SOUTH 300 WEST
SANDY, UT 84070-3262, US**

72 Inventor/es:

**MCCAUSLAND, CALVIN, W.;
VAUGHAN, BRENT;
LISONBEE, DAVID y
HENNEN, WILLIAM, J.**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

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

ES 2 659 538 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

Preparaciones de factor de transferencia y métodos asociados

Campo de la Invención

5 La presente invención se refiere de manera general a preparaciones que incluyen factor de transferencia, y en forma más específica, a preparaciones comestibles tales como bebidas y sólidos que incluyen factor de transferencia. Además, la presente invención se refiere a métodos para fabricar preparaciones comestibles, que contienen factor de transferencia y a métodos que incluyen la administración de dichas preparaciones.

Breve Descripción de la Invención

10 En un aspecto, la presente invención incluye una bebida de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye factor de transferencia. La bebida incluye un componente líquido o semisólido comestible y factor de transferencia. El componente líquido o semisólido puede comprender un jugo de frutas, gelatina, producto a base de lácteos o cualquier otra composición bebible, adecuada con componentes que son compatibles con factor de transferencia. Cuando se mezcla con el componente líquido, el factor de transferencia puede retener substancialmente toda de una o más de sus actividades (por ejemplo componentes del componente líquido pueden no interferir con una o más actividades del factor de transferencia), o una o más de las actividades del factor de transferencia realmente pueden ser aumentadas por uno o más componentes del componente líquido de la bebida.

15 En otro aspecto, la presente invención incluye una composición con un componente de frutas y factor de transferencia de acuerdo con la reivindicación 1, donde el componente de frutas incluye al menos una fruta que contiene oligoproantocianidina ("OPC") o un extracto de la misma. El término "extracto" se define ampliamente en la presente invención, como cualquier parte de una fruta que incluye OPC. Los ejemplos de extractos incluyen sin limitación, jugos (diluido, concentración normal o concentrado), fruta deshidratada y polvos que incluyen uno o más componentes de la fruta. Dicha composición puede estar en una forma líquida o en una forma sólida, incluyendo pero sin limitarse a formas sólidas que sean configuradas para al menos la disolución o digestión parcial en la boca de un sujeto.

20 Otro aspecto de la presente invención incluye un proceso para elaborar una preparación comestible que incluye factor de transferencia. El proceso incluye mezclar un componente de fruta con un factor de transferencia. Los conservadores también pueden ser incluidos en la mezcla. La mezcla puede ser enfriada para prevenir el crecimiento de microbios. Para evitar un crecimiento bacteriano adicional, la mezcla puede ser pasteurizada antes de enfriarse. Como alternativa, la mezcla puede ser esterilizada. Otras características y ventajas de la presente invención podrán ser apreciadas por los expertos en la técnica a través de la consideración de la descripción que se encuentra a continuación y las reivindicaciones adjuntas.

Descripción Detallada de la Invención

25 Una modalidad de ejemplo de una bebida de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye factor de transferencia puede ser líquida o semisólida. Dicha bebida puede incluir un componente líquido o semisólido comestible, así como un factor de transferencia. El componente líquido o semisólido puede comprender un jugo de frutas, con componentes que son compatibles con factor de transferencia. Cuando se mezcla con el componente líquido, el factor de transferencia puede retener substancialmente toda de una o más de sus actividades (por ejemplo, componentes del componente líquido pueden no interferir con una o más actividades del factor de transferencia), o una o más de las actividades del factor de transferencia realmente pueden ser mejoradas a través de uno o más de los componentes líquidos de la bebida. Dicho líquido también puede incluir uno o más conservadores. Como alternativa, o en forma adicional, se puede incluir lactoferrina en una bebida que incluye el factor de transferencia.

30 La preparación comestible de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye factor de transferencia también incluye un componente de fruta. La preparación comestible también puede incluir uno o más conservadores. Adicionalmente, se incluye la lactoferrina en una composición comestible.

35 El componente de fruta incluye al menos una fruta que naturalmente incluye OPC o un jugo u otro extracto de dicha fruta. A manera de ejemplo sin limitación, el componente de fruta puede incluir uno o más de fruto de palma (acai), baya del saúco, uva y granada o un extracto de las mismas. OPC es un antioxidante conocido (ver el documento EP1602653) y por consiguiente puede ser útil en la neutralización o acción diferente contra radicales libres y otros oxidantes, los cuales pueden afectar adversamente las membranas celulares, originando envejecimiento celular prematuro y son conocidos o se consideran que son al menos indirectamente las responsables de una amplia variedad de estados de enfermedad, así como inmunidad comprometida, en seres vivos.

40 El componente de factor de transferencia puede ser cualquier tipo de factor de transferencia, así como una combinación de dos o más tipos de factor de transferencia. Por ejemplo, el factor de transferencia aviar, factor de transferencia de bovino o cualquier otro tipo de factor de transferencia puede incluirse en el componente de factor de transferencia. El factor de transferencia del factor componente de transferencia puede derivarse de cualquier fuente adecuada, aceptable. Por ejemplo, el factor de transferencia aviar puede obtenerse de huevos, tal como a través de

un proceso que se describe en la Patente Norteamericana número 6,468,534 de Henner y asociados (en lo sucesivo "Hennen"). Un ejemplo de la forma en la cual el factor de transferencia bovino puede obtenerse, se describe en la Patente Norteamericana número 4,816,563 de Wilson y asociados (en lo sucesivo "Wilson"). Las composiciones que incluyen dos o más tipos de factor de transferencia, así como procesos para combinar y procesar dos o más tipos de factor de transferencia, se describen en la Patente Norteamericana número 6,866,868 de Lisonbee y asociados (en lo sucesivo "Lisonbee").

El documento WO 2004/017916 describe composiciones que incluyen factor de transferencia para su uso en terapia cardiovascular, que pueden incluir además, uno o más de un elemento receptor de unión a LDL, un elemento mejorador del flujo sanguíneo, un elemento reductor de colesterol, un elemento para la prevención de la oxidación de grasa, y un antioxidante.

El factor de transferencia es conocido además o se considera que mejora el equilibrio oxidativo de un ser vivo, así como que aumenta la efectividad de antioxidantes, tal como se demuestra en la descripción de la Solicitud de Patente Internacional presentada de acuerdo con el Tratado de Cooperación de Patentes y que tiene el Número de Publicación Internacional WO 2004/041071 A2 (en lo sucesivo "Dadali").

Una preparación comestible de acuerdo con la presente invención también puede incluir uno o más conservadores. Los conservadores adecuados, tales como los aceptados para utilizarse en bebidas y alimentos pueden ser los utilizados. Los ejemplos de conservadores que pueden estar incluidos en una preparación comestible de la presente invención incluyen, pero no se limitan a, benzoato de sodio y conservadores de la familia de químicos de paraben.

La lisozima, cuando se utiliza en una preparación comestible que incorpora las enseñanzas de la presente invención, actúa como un conservador. Aunque la lisozima ha sido utilizada como un conservador en quesos, se considera que ha sido utilizada previamente por esta capacidad en preparaciones comestibles que incluyen frutas o extractos de las mismas.

En forma alternativa, la lactoperoxidasa también puede incluir en preparaciones comestibles que incorporan las enseñanzas de la presente invención. La lactoperoxidasa es otro conservador que ha sido utilizado en productos lácteos, pero se considera que la lactoperoxidasa no ha sido utilizada para conservar composiciones comestibles que incluyan frutas o extractos de frutas.

La lactoferrina es conocida o se considera que estimula el sistema inmune y puede trabajar en armonía con el factor de transferencia para mejorar la inmunidad de un sujeto que recibe una preparación comestible que incorpora las enseñanzas de la presente invención. La lactoferrina también es conocida por dejar en inanición las bacterias, y por lo tanto, puede actuar como un conservador cuando se incluye en una preparación comestible que incorpora las enseñanzas de la presente invención.

En una modalidad de ejemplo, la preparación comestible puede ser un líquido, un semisólido o un sólido. Una forma líquida de preparación comestible puede estar en la forma de un jugo de frutas. Una forma sólida de una preparación comestible puede estar configurada para consumirse como un sólido (por ejemplo, una tableta masticable, una tableta efervescente, una tableta disoluble, una tira de gel disoluble, etc.) para reconstitución como un líquido, o en otro modo adecuado.

La preparación comestible líquida que incorpora las enseñanzas de la presente invención, se describe en el siguiente ejemplo.

Ejemplo 1

A continuación se encuentra un ejemplo de una formulación para una preparación comestible líquida que incluye factor de transferencia:

TABLA 1

Ingrediente	Porcentaje de total (p/v)	Densidad (g/ml)	Porcentaje de jugos totales (v/v)
Agua	76.681	1.000	
Jugo de manzana	5.146	1.346	19
Jugo de uva morada	5.100	1.330	19
Glicerina	3.980	1.249	
Jugo de mora azul	3.772	1.315	18
Factor de transferencia E-XF	1.912		
Jugo de granada	1.480	1.315	15

(continuación)

Ingrediente	Porcentaje de total (p/v)	Densidad (g/ml)	Porcentaje de jugos totales (v/v)
Concentrado color uva (por ejemplo morado MEGANATURAL™ de Canandaigua Concentrates & Colors, a Division of Canandaigua Wine Company of Madera, California)	0,500	1.306	
Vitamina C	0,498		
Jugo baya	0,419	1.315	15
Saborizantes			
Sabor de cereza (BE-01407)	0,198	1.000	
Sabor de cereza (BE-01271)	0,055	1.000	
Vainilla natural (VA-01239)	0,165	1.000	
Polvo acai (fruta de palma)	0,318		14
Lactoferrina	0,191		
Lisozima	0,014		
Lactoperoxidasa	0,003		

El factor de transferencia E-XF incluye factor de transferencia de bovino de calostro de vaca y factor de transferencia aviar de la yema de un huevo de pollo.

5 Los saborizantes que se describen en la tabla 1 están disponibles en Flavors Inc.

Una dosificación diaria de aproximadamente una onza (aproximadamente 30 ml) o más de una composición con ingredientes en las proporciones descritas en la tabla 1, puede ser administrada a, o consumida por un sujeto. Además de los numerosos beneficios conocidos y considerados de los antioxidantes, incluyendo los beneficios de OPC y frutas que contienen OCP tales como acai (fruta de palma), la administración o consumo de una composición comestible que incorpora las enseñanzas de la presente invención, proporciona al sujeto los efectos benéficos adicionales y algunas veces sinérgicos del factor de transferencia, los cuales son conocidos en la técnica, tal como se puede evidenciar a través de las descripciones de Dadali, Hennen, Lisonbee y Wilson.

10 Una preparación comestible de acuerdo con la reivindicación 1 puede ser elaborada mezclando componentes de una base de alimentos con factor de transferencia y lactoferrina mediante procesos que son conocidos en la técnica. Además, los conservadores, incluyendo sin limitación lisozima, lactoperoxidasa y otros conservadores de alimentos, pueden mezclarse con la base de alimentos.

15 Por supuesto, los tipos de procesos que se utilizan, y posiblemente, el orden en el cual se incluyen ciertos ingredientes, puede depender en parte de la forma, o estado (por ejemplo líquido, sólido, semisólido, etc.) de varios ingredientes que se mezclan entre sí, sus solubilidades y la forma, o estado deseado de la preparación comestible resultante (es decir, si la preparación comestible es líquida, semisólida, sólida, incluye carbonación, etc.). Los procesos adecuados que pueden ser utilizados para fabricar preparaciones comestibles de una variedad de diferentes formas son bien conocidos y están dentro de las habilidades de los expertos en las técnicas relevantes.

20 Se puede fabricar una preparación comestible líquida de acuerdo con la reivindicación 1 con ingredientes líquidos o con líquidos e ingredientes sólidos disolubles (por ejemplo polvo, cristalinos, etc.) o semisólidos (por ejemplo, gel, pasta, etc. Como alternativa, se puede mezclar los ingredientes secos entre sí, posteriormente reconstituirse (por ejemplo, en agua, jugo, etc.) a través ya sea de un fabricante, un distribuidor o un usuario final de la forma líquida.

25 Las técnicas conocidas, tales como se describen en la publicación de "Principios y Prácticas de Procesamiento de Jugos de Fruta de Escala Pequeña y Mediana", Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO) Services Bulletin 146 (Roma, 2001), se pueden utilizar en una o más partes de un proceso para fabricar preparaciones comestibles fluidas que incorporan las enseñanzas de la presente invención.

30 Una preparación comestible sólida o semisólida puede ser fabricada con componentes secos, semisólidos o líquidos, o combinaciones de los mismos, posteriormente si se desea, secarse (por ejemplo mediante procesos de deshidratación, etc.) hasta obtener un estado deseado. La preparación comestible sólida puede ser fabricada en una forma adecuada (por ejemplo tableta masticable, tableta o gel disoluble, goma para masticar, polvo reconstituible, etc.) a través de procesos que son conocidos en la técnica. Por supuesto, se pueden utilizar varios ingredientes adicionales (por ejemplo de llenadores, edulcorante, agentes de generación de mechas, etc.) para facilitar la fabricación de la preparación comestible en una forma sólida deseada. Los ejemplos de ingredientes adicionales que pueden ser incluidos en una preparación comestible sólida o semisólida incluyen, pero no se limitan a, uno o más de los siguientes: pululan, almidón de maíz, gelatina, dextrina, glicerina, carragena, goma xantán, dextrosa, jarabe de maíz y cera de abeja. La incorporación de ingredientes adicionales en la composición comestible está dentro de la experiencia de quienes tienen práctica en la técnica.

Sin limitar el alcance de la presente invención, se pueden formar varios tipos de composiciones comestibles sólidas a través de procesos conocidos, incluyendo pero sin limitarse a los procesos que se describen en "Tablets", <http://pharmlabs.unc.edu/tablets/text.htm> y en las Patentes Norteamericanas números 6,326,028 de Nivaggioli y asociados, 6,733,781 de Abu-Izza y asociados, y 6,811,795 de Wehling.

5 Los procesos que se utilizan para fabricar preparaciones comestibles que están en una forma que no es completamente seca, tal como un estado líquido o semisólido, pueden efectuarse a baja temperatura (por ejemplo entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 10°C, aproximadamente en 4°C, etc.) tal como en un ambiente refrigerado, posteriormente transportarse y almacenarse a dichas temperaturas para reducir la probabilidad de crecimiento microbiano o proliferación en el mismo.

10 Como alternativa, una preparación comestible que está en una forma que no está completamente seca puede ser pasteurizada o esterilizada. Los procesos de pasteurización, los cuales disminuyen el número de microorganismos presentes, pero no eliminan completamente los microorganismos, mejoran la estabilidad de productos que serán almacenados a temperaturas reducidas (por ejemplo, congelados o refrigerados, o "enfriados"). Cuando una preparación comestible es esterilizada, todos o substancialmente todos los microorganismos que se encuentran en la misma son exterminados o desactivados, facilitando el almacenamiento prolongado de la preparación comestible a temperatura ambiente, o incluso a temperaturas mayores.

15 Como un ejemplo, una preparación comestible de acuerdo con la reivindicación 1 que incluye un factor de transferencia puede esterilizarse a través de procesos de inyección de vapor supercalentado conocidos. Las temperaturas y duraciones de dichos procesos dependen, por supuesto, de la forma e ingredientes de la composición que será utilizada. Cuando se hace una preparación líquida, la preparación comestible resultante puede ser calentada con centelleo hasta una temperatura en particular (por ejemplo, 120°C), durante una duración correspondiente (por ejemplo, dos segundos). Como alternativa, se puede utilizar un proceso de esterilización o pasteurización de diferente duración y temperatura, siempre que la duración y temperatura del proceso estén de acuerdo substancialmente con una práctica que ha sido aceptada en la técnica, tal como el uso de la siguiente ecuación:

$$t_p = 5 \cdot 10^{14} \cdot e^{-0.4353 \cdot T_{mo}},$$

en donde t_p es la duración mínima del proceso, y T_{mo} es la temperatura en la cual el proceso se lleva a cabo.

20 Por supuesto, los procesos que reducen la carga microbiana en una preparación comestible de la presente invención, no necesitan comprender técnicas de tratamiento con calor. La esterilización u otras técnicas de reducción de carga microbiana que emplean otros medios (por ejemplo, filtración, ingredientes antimicrobianos, etc.) también se pueden utilizar en la fabricación de una preparación comestible. Los ejemplos de procesos adecuados se describen en Hughes, D. E., and Nyborg, W., "Minimally Processed Fruits and Vegetables: Reducing Microbial Load by Nonthermal Physical Treatments", Food Technology 52(6):66-71 (1997).

35 Se desea que, después de la pasteurización o esterilización, el factor de transferencia retenga parte, si no es que toda o substancialmente toda de su actividad. Se puede emplear una variedad de procesos de pasteurización o esterilización, incluyendo procesos de pasteurización o esterilización que puedan ser utilizados para reducir coneros microbianos o eliminar completamente microorganismos de los alimentos. Ya que se conocen muchos procesos de esterilización para reducir en forma significativa la actividad de ciertas proteínas, incluyendo anticuerpos, se llevó a cabo un estudio para determinar si el factor de transferencia retiene al menos parte de su actividad después de la esterilización.

40 En el estudio, se utilizaron técnicas de ensayo en pata de ratón, en forma similar al que se describe en la publicación J. Natl. Cancer Inst. 55(5): 1089-95 (Nov. 1975), para determinar los efectos de los procesos de pasteurización o esterilización con calor (específicamente, procesos de inyección de vapor supercalentados) en preparaciones comestibles de acuerdo con la reivindicación 1 que incluyen factor de transferencia. Se compararon dos muestras esterilizadas con una muestra no esterilizada, así como un control negativo y un control positivo.

45 Se probaron poblaciones separadas de seis ratones para cada una de las cinco muestras y controles. Las pruebas se llevaron a cabo en dos fases, una primera que siguió inmediatamente la esterilización con calor de las muestras, y una segunda que se llevó a cabo después de almacenar dos muestras esterilizadas con calor a una temperatura de aproximadamente 40°C, durante aproximadamente tres meses, lo cual es bien aceptado en la técnica por ser el equivalente de aproximadamente un año de almacenamiento a temperatura ambiente. Se utilizaron treinta diferentes ratones en cada fase del estudio. Se llevaron a cabo los siguientes procedimientos en cada fase del estudio.

50 En el control positivo (es decir, el "quinto grupo"), catorce días antes de las pruebas, las patas de la pata trasera derecha de seis ratones BALB/c que tienen edades de aproximadamente nueve semanas hasta aproximadamente 10 semanas, se anestesiaron con isoflurano. Posteriormente, 0.02 ml de una mezcla de aproximadamente 50/50 (p/p) de adyuvante de Freund y vacuna de diarrea de virus de rinotraqueitis de bovino se administraron en forma intramuscular a cada ratón a través de dos inyecciones en la base de cada parte lateral de la cola del ratón. Esta inyección temprana de antígenos permite a los ratones del grupo de control positivo generar su propia respuesta inmune primaria y secundaria, o respuesta de hipersensibilidad tipo retrasada para el antígeno. Los ratones de los

otros cinco grupos no fueron expuestos previamente de antígeno en esta forma.

5 Aproximadamente veinticuatro horas antes de evaluar las patas traseras de los ratones, los seis ratones BALB/c de cada grupo, los cuales tuvieron edad similar a los ratones del grupo de control positivo, fueron anestesiados con isoflurano. Aproximadamente 0.5 ml de la solución de muestra o solución de control se administró posteriormente mediante inyección subcutánea en la parte trasera del cuello de cada ratón.

En el primer grupo (ver ejemplo 2 que se encuentra más adelante) el cual fue el grupo de control negativo, la parte trasera del cuello de cada ratón se inyectó con aproximadamente 0.5 ml de solución salina estéril.

10 En el segundo grupo (ver ejemplo 3 que se encuentra más adelante), la solución de muestra incluyó 16% de sólidos (p/v) de una fracción de calostro liofilizado reconstituido (en agua destilada, desionizada) que incluyó factor de transferencia. La solución se ajustó a un pH de 4.0, el cual se proyectó para estimar el pH de una preparación de jugo de frutas (cuyo pH real es de aproximadamente 3.6 o aproximadamente 3.7). Después de la reconstitución y ajuste de pH, la solución se esterilizó calentando la misma a una temperatura de aproximadamente 120°C durante aproximadamente dos segundos.

15 En el tercer grupo (ver ejemplo 4 que se encuentra más adelante), la solución de muestra incluyó 16% de sólidos (p/v) de una fracción de calostro liofilizado reconstituido (en agua destilada, desionizada) que incluyó factor de transferencia. El pH de la solución resultante no se ajustó, y por lo tanto, fue neutral (por ejemplo 7.0) o ligeramente básico (por ejemplo, mayor a 7.0)). Después de la reconstitución, la solución se esterilizó mediante calentamiento de la misma a una temperatura de aproximadamente 120°C durante aproximadamente dos segundos.

20 En el cuarto grupo (ver ejemplo 5 que se encuentra más adelante) la solución de muestra fue un concentrado de fracción de calostro que incluyó factor de transferencia cuando había sido diluido hasta aproximadamente 16% de sólidos (p/v) en agua destilada, desionizada. Esta solución no fue esterilizada con calor o ajustada con pH.

Los ratones del quinto grupo (ver ejemplo 6 que encuentra más adelante) el cual fue el grupo de control positivo, respectivamente, recibió solución salina estéril.

25 Al inicio del ensayo en las partes suaves de las patas de ratones, la pata trasera derecha y la pata trasera izquierda de cada ratón fueron medidas, con un calibrador Starrett. La pata trasera derecha de cada uno de los treinta ratones durante cada fase del estudio, fue inyectada posteriormente en forma subcutánea con una solución que contiene antígeno. La pata trasera de la pata trasera izquierda de cada uno de los treinta ratones en cada fase, el cual se utilizó como un control, se inyectó con aproximadamente el mismo volumen de una solución de control, tal como un diluyente de solución salina estéril, conforme el volumen de solución que contiene antígenos fue inyectado en la pata trasera derecha.

30 Después de una cantidad de tiempo suficiente (aproximadamente veinticuatro horas) para los componentes de respuesta inmune secundaria del sistema inmune de cada ratón que responde, cada ratón fue anestesiado nuevamente y se midieron otra vez las distancias a través de las patas traseras derechas e izquierdas. Una cantidad significativa de hinchazón, determinada a través de un incremento en la distancia a través de la pata trasera derecha de un ratón a partir de la medida inicial hasta la segunda medida, indica el surgimiento de una reacción de hipersensibilidad tipo retardada en dicha pata.

35 Los resultados de los ensayos de pata de ratones, y algunos análisis asociados, se establecen en los ejemplos del 2 al 5 y el 7:

Ejemplo 2

40 En la primera fase del estudio, las partes suaves de las patas traseras derechas de los seis ratones del control negativo, o primer grupo, exhibieron en promedio, aproximadamente 6.35 micrómetros más de hinchazón en aproximadamente 24 horas después de que fueron inyectados con la solución de antígenos, que la hinchazón medida en las partes suaves de las patas traseras izquierdas de estos ratones, los cuales fueron meramente inoculados con solución salina.

45 Los resultados del control negativo durante la segunda fase del estudio se establecen en la siguiente tabla.

TABLA 2

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
1	Izquierda (control)	1930,40	1955,80	25,40
	Derecha (prueba)	1905,00	1930,40	25,40
2	Izquierda (control)	1981,20	2006,60	25,40
	Derecha (prueba)	2006,60	2057,40	50,80

(continuación)

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
3	Izquierda (control)	2057,40	2057,40	0,00
	Derecha (prueba)	2032,00	2057,40	25,40
4	Izquierda (control)	2006,60	2032,00	25,40
	Derecha (prueba)	2032,00	2057,40	25,40
5	Izquierda (control)	1955,80	2006,60	50,80
	Derecha (prueba)	1930,40	1955,80	25,40
6	Izquierda (control)	1905,00	1930,40	25,40
	Derecha (prueba)	1876,60	1955,80	76,20

5 En forma similar a los resultados de la primera fase, las partes suaves de la pata trasera izquierda de los ratones del grupo de control negativo exhibieron, en promedio, únicamente 12.70 micrómetros más de hinchazón aproximadamente 24 horas después de la inyección de antígenos que las partes suaves de la pata trasera izquierda de los mismos ratones exhibida 24 horas después de la inyección de solución salina estéril. Ya que veinticuatro horas no es un período de tiempo suficiente para que un ratón tenga una respuesta inmune primaria (por ejemplo, transmitida por anticuerpo) al antígeno, estas diferencias significativas en hinchazón mostraron que los ratones no exhiben una respuesta inmune secundaria significativa al antígeno.

10 **Ejemplo 3**

15 En la primera fase del estudio, aproximadamente veinticuatro horas después de que los ratones se inyectaron con la solución de antígenos, las partes suaves de la pata trasera derecha de los seis ratones del segundo grupo de ratones (en donde los ratones habían sido inoculados previamente con una solución que incluye 16% de sólidos (p/v) de calostro en un pH de 4.0) se hincharon, en promedio, 50.80 micrómetros más que la hinchazón que se midió en las partes suaves de la pata trasera izquierda de estos ratones. Estos resultados indican que hubo una mayor respuesta inmune secundaria, o hipersensibilidad tipo retardada en las partes suaves de las patas en donde el antígeno se inyectó, que en las partes suaves de las patas en las cuales no se inyectó antígeno, las cuales probablemente se hincharon debido a que fueron pinchadas por una aguja.

En la segunda fase del estudio, se obtuvieron resultados similares, tal como se establece en la siguiente tabla:

20

TABLA 3

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
1	Izquierda (control)	1955,80	2006,60	50,80
	Derecha (prueba)	1981,20	2057,40	76,20
2	Izquierda (control)	1930,40	2006,60	76,20
	Derecha (prueba)	1955,80	2108,20	152,40
3	Izquierda (control)	1955,80	2006,60	50,80
	Derecha (prueba)	1981,20	2082,80	101,60
4	Izquierda (control)	2032,00	2057,40	25,40
	Derecha (prueba)	2057,40	2108,20	50,80
5	Izquierda (control)	1930,40	2006,60	76,20
	Derecha (prueba)	1955,80	2032,00	76,20
6	Izquierda (control)	2057,40	2108,20	50,80
	Derecha (prueba)	2032,00	2159,00	127,00

25 En forma más específica, las partes suaves de la pata trasera derecha de seis ratones del segundo grupo se hincharon de modo que midieron, en promedio, 42.33 micrómetros más que la hinchazón que se midió en las partes suaves de la pata trasera izquierda de estos ratones antes y después de la inoculación de sus partes suaves de las patas con la solución de antígeno. Los resultados similares entre la primera y segunda fases del estudio indican que, una vez que una solución líquida que incluye el factor de transferencia ha sido esterilizada, no existe cambio o hay muy poco cambio en la actividad del factor de transferencia después de un almacenamiento prolongado de la solución.

Ejemplo 4

Los resultados del tercer grupo de ratones (los cuales habían sido inoculados previamente con una solución que incluye 16% de sólidos (p/v) de calostro en pH normal) fueron similares a los resultados del segundo grupo en la primera y segunda fases del estudio.

- 5 En la primera fase del estudio, aproximadamente veinticuatro horas después de las inyecciones de las partes suaves de las patas inoculadas con solución de antígeno de la pata trasera derecha de los seis ratones del tercer grupo de ratones se hincharon, en promedio, 35.98 micrómetros más que la hinchazón que se midió en las partes suaves de las patas inoculadas con solución salina de la pata trasera izquierda de estos ratones. Estos resultados indican que hubo una mayor respuesta inmune secundaria, o hipersensibilidad tipo retardada en las partes suaves de las patas en donde se inyectó antígeno que en las partes suaves de las patas en donde no se inyectó antígeno, las cuales muy probablemente se hincharon meramente debido a que fueron pinchadas por una aguja.
- 10

En la segunda fase del estudio, se obtuvieron resultados similares, tal como se establece en la siguiente tabla:

TABLA 4

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
1	Izquierda (control)	2006,60	2032,00	25,40
	Derecha (prueba)	2032,00	2082,80	50,80
2	Izquierda (control)	2057,40	2057,40	0,00
	Derecha (prueba)	206,60	2108,20	101,60
3	Izquierda (control)	1981,20	2006,60	25,40
	Derecha (prueba)	2057,40	2082,80	25,40
4	Izquierda (control)	2006,60	2057,40	50,80
	Derecha (prueba)	2032,00	2082,80	50,80
5	Izquierda (control)	2057,40	2082,80	25,40
	Derecha (prueba)	2082,80	2159,00	76,20
6	Izquierda (control)	2082,80	2108,20	25,40
	Derecha (prueba)	2108,20	2159,00	50,80

- 15 Estos resultados muestran que las partes suaves de la pata trasera derecha de los seis ratones del tercer grupo, se hinchó de modo que midieron, en promedio, 33.87 micrómetros más que la hinchazón que se midió en las partes suaves de la pata trasera izquierda de estos ratones antes y después de la inoculación de las partes suaves de la pata con la solución de antígeno. Los resultados similares entre la primera y segunda fases del estudio indican que, después de un almacenamiento prolongado, hay poco cambio o no hay cambio en la actividad del factor de transferencia en una solución esterilizada con calor.
- 20

Ejemplo 5

Estos resultados se confirmaron a través de los resultados que se obtuvieron a partir del cuarto grupo de ratones. En particular, durante la primera fase del estudio, las partes suaves de la pata trasera derecha de los ratones en el cuatro grupo (el cual incluyó ratones que habían sido inoculados con una fracción de calostro líquido diluido que no había sido esterilizado con calor) exhibieron, en promedio, aproximadamente 35.98 micrómetros más de hinchazón que las partes suaves de las patas de la parte trasera izquierda de estos ratones aproximadamente 24 horas antes de que estas partes suaves hubieran sido inoculadas con una solución de antígenos y solución salina estéril, respectivamente.

25

- 30 Se obtuvieron resultados similares durante la segunda fase del estudio, en la cual la diferencia promedio fue de 42.33 micrómetros, tal como se puede evidenciar a través de los siguientes datos:

TABLA 5

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
1	Izquierda (control)	1955,80	2032,00	76,20
	Derecha (prueba)	1981,20	2082,80	101,60
2	Izquierda (control)	2006,60	2057,40	50,80
	Derecha (prueba)	2032,00	2108,20	76,20
3	Izquierda (control)	1955,80	2006,60	50,80
	Derecha (prueba)	1930,40	2057,40	127,00
4	Izquierda (control)	1955,80	2082,80	127,00

(continuación)

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
	Derecha (prueba)	1905,00	2032,00	127,00
5	Izquierda (control)	2032,00	2082,80	50,80
	Derecha (prueba)	2057,40	2184,40	127,00
6	Izquierda (control)	1955,80	1955,80	0,00
	Derecha (prueba)	2006,60	2057,40	50,80

5 Ya que los resultados son comparables (es decir, no son significativamente mayores) con los obtenidos con las soluciones esterilizadas con calor (ver resultados de los ejemplos 3 y 4) podrá apreciarse que la esterilización con calor de una solución que incluye factor de transferencia no disminuye o reduce en forma significativa la actividad del factor de transferencia.

Ejemplo 6

10 Esta conclusión fue verificada a través de los datos de otro ensayo en la parte blanda de las patas de ratones, en donde se inocularon seis ratones BALB/c, en la parte de atrás del cuello, con 0.5 ml de una solución que incluye 16% de sólidos (p/v) de una fracción de calostro secada con rocío que había sido reconstituida en agua destilada, desionizada. Aproximadamente 24 horas más tarde, los ratones fueron anestesiados con isoflurano, posteriormente las partes suaves de las patas en su pata trasera se midió e inoculó en la forma descrita anteriormente (es decir, la parte blanda de la parte izquierda con solución salina estéril, parte blanda derecha con solución de antígeno).
 15 Después de aproximadamente otras 24 horas, las partes suaves de las patas se midieron nuevamente. Las partes suaves de las patas derechas de estos ratones se hincharon, en promedio, aproximadamente 42.33 micrómetros más que las partes suaves de la pata trasera izquierda de estos ratones. Este valor es comparable (es decir no es significativamente diferente) con las diferencias observadas anteriormente con respecto al segundo, tercero y cuarto grupos de ratones tanto en la primera como segunda fase del estudio descrito en los ejemplos del 2 al 5 y 7, soportando en forma adicional la conclusión de que la esterilización con calor de una solución que incluye factor de transferencia, tal como las soluciones que fueron probadas en el segundo y tercer grupo de ratones (ejemplos 3 y 4) no tienen un efecto adverso significativo en la actividad del factor de transferencia.

Ejemplo 7

25 El hecho de que el factor de transferencia con el cual los ratones fueron inoculados fueran responsables de la respuesta inmune secundaria incrementada, está soportada por los resultados del quinto grupo o grupo de control positivo, de ratones durante la segunda fase del estudio, tal como se establece en la segunda tabla:

TABLA 6

Ratón	Pata (izquierda/derecha)	Parte suave de la pata (no tratada) (micrómetros)	Parte suave de la pata (final) (micrómetros)	Parte suave de la pata (diferencia) (micrómetros)
1	Izquierda (control)	1981,20	2006,60	25,40
	Derecha (prueba)	2006,60	2082,80	76,20
2	Izquierda (control)	1828,80	1854,20	25,40
	Derecha (prueba)	1879,60	2082,80	203,20
3	Izquierda (control)	1905,00	1930,40	25,40
	Derecha (prueba)	1981,20	2082,80	101,60
4	Izquierda (control)	2006,60	2057,40	50,80
	Derecha (prueba)	2032,00	2184,40	152,40
5	Izquierda (control)	2032,00	2057,40	25,40
	Derecha (prueba)	2057,40	2184,40	127,00
6	Izquierda (control)	2108,20	2108,20	0,00
	Derecha (prueba)	2082,80	2184,40	101,60

30 Estos resultados, los cuales muestran en promedio, 101.60 micrómetros más de hinchazón en las partes suaves de las patas que fueron inoculadas con solución de antígenos con respecto a las que fueron inoculadas con solución salina estéril, son similares a la diferencia de 124.88 micrómetros observados en los ratones del grupo de control positivo durante la primera fase del estudio de la parte blanda de la pata de ratones. La mayor hinchazón en las partes suaves de las patas inoculadas con solución de antígeno de los ratones del grupo de control positivo indica una mayor respuesta inmune secundaria que la inducida en forma artificial a través de la administración de factor de

transferencia, ya que los ratones del grupo de control positivo tuvieron un periodo de tiempo suficiente (es decir, dos semanas) para generar su propio factor de transferencia, y por lo tanto, para generar su propia respuesta inmune secundaria al antígeno.

5 Una vez que se ha fabricado una preparación comestible de la presente invención, puede introducirse en un contenedor limpio o estéril para el transporte y almacenamiento subsecuentes.

Ejemplo 8

10 En otro estudio, se llevaron a cabo ensayos en las partes suaves de la pata de ratones para determinar la efectividad del factor de transferencia en muestras tratadas con calor de una solución líquida que incluye factor de transferencia que ha sido almacenado durante un año. En total, se prepararon cuatro muestras, teniendo dos de ellas un pH de aproximadamente 4 y teniendo dos de ellas un pH de aproximadamente 7. Todas las muestras han sido esterilizadas en forma instantánea a una temperatura de aproximadamente 120°C, durante aproximadamente 2 segundos hasta aproximadamente 4 segundos. Las muestras se almacenaron en forma subsecuente durante un año en donde cada una de las muestras con un pH = 4 y pH = 7 siendo almacenadas a temperatura ambiente (la cual varía de aproximadamente 18°C hasta aproximadamente 25°C) y en donde cada una de las muestras tiene un pH = 15 4 y pH = 7 habiendo siendo refrigeradas (a temperaturas de aproximadamente 4°C). Después de año, las muestras fueron liofilizadas. Antes de las pruebas, las muestras liofilizadas se reconstituyeron hasta concentraciones deseadas, posteriormente se administraron en la forma descrita anteriormente.

20 En la primera muestra, la cual incluye un líquido que tiene un pH de aproximadamente 4 se almacenó a temperatura ambiente, la hinchazón de la parte blanda de la pata fue en promedio de 50.80 micrómetros más que las partes suaves de las patas que han sido inyectadas con antígeno versus las partes suaves de las patas que han sido inyectadas meramente con solución salina. Estos resultados se repitieron en una segunda (líquido con un pH de aproximadamente 7 que fue almacenado a temperatura ambiente), tercera (líquido de un pH de aproximadamente 4 que ha sido refrigerado) y cuarta (líquido de un pH de aproximadamente 7 que fue refrigerado) muestras, en las cuales las partes suaves de las partes traseras de las patas habían sido inyectadas con antígeno, se hincharon, en promedio respectivamente 59.27, 67.73, y 63.50 micrómetros más que las partes suaves de las patas traseras que 25 habían sido inyectadas meramente con solución salina.

30 Además, se prepararon controles positivos y negativos tal como se describió anteriormente. En el control positivo, la diferencia promedio es la hinchazón entre las partes suaves de las patas inyectadas con antígenos y las partes suaves de las patas inyectadas con solución salina fue de 114.30 micrómetros. En el control negativo, la diferencia promedio en hinchazón entre las partes suaves de las patas inyectadas con antígenos y las partes suaves de las patas inyectadas con solución salina fue únicamente de 38.10 micrómetros.

35 Tomados en conjunto, estos datos indican que la hinchazón incrementada fue debido a la presencia del factor de transferencia en ratones en las áreas (partes suaves de las patas traseras) en las cuales se introdujo el antígeno. En forma adicional, estos datos indican que el factor de transferencia perdió poco o nada de su efectividad después del tratamiento con calor y almacenamiento prolongado. La actividad del factor de transferencia en muestras refrigeradas parece haber sido ligeramente mayor que la actividad del factor de transferencia en las muestras a temperatura ambiente.

40 Además, a partir de lo anterior parece que el pH en el factor de transferencia se mantiene (aproximadamente 4 o aproximadamente 7) no tiene efecto o tiene poco efecto en su viabilidad a largo plazo.

45 Aunque la descripción anterior contiene muchas especificidades, esto no se construye como una limitación del alcance de la presente invención, sino meramente como un suministro de ilustraciones de algunas de las modalidades actualmente preferidas. En forma similar, se pueden considerar otras modalidades de la presente invención las cuales no se apartan del espíritu o alcance de la misma. Las características procedentes de diferentes modalidades pueden emplear en combinación. El alcance de la presente invención, por consiguiente, se indica y se limita únicamente a través de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes legales, en lugar de por la descripción anterior. Todas las adiciones, eliminaciones y modificaciones a la presente invención aquí descritas, y que están dentro de los significados y alcances de las reivindicaciones están contenidas en la misma.

REIVINDICACIONES

1. Un suplemento nutricional, que comprende:
 - un componente de fruta que incluye un zumo de una fruta que contiene oligoproantocianidina, conteniendo el zumo una oligoproantocianidina;
 - 5 un componente de factor de transferencia que incluye al menos factor de transferencia y lactoferrina.
2. El suplemento nutricional de la reivindicación 1, en el que el zumo comprende zumo de acai.
3. El suplemento nutricional de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el componente de fruta comprende zumo de uno o más de baya del saúco, uva y granada.
4. El suplemento nutricional de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el componente de factor de transferencia comprende al menos uno de factor de transferencia aviar y factor de transferencia bovino.
- 10 5. El suplemento nutricional de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el componente de fruta y el componente de factor de transferencia están pasteurizados.
6. Un procedimiento para fabricar un suplemento nutricional, que comprende:
 - formar una mezcla que incluye:
 - 15 un componente de factor de transferencia;
 - un componente de fruta que incluye una fruta que contiene oligoproantocianidina o una parte que incluye oligoproantocianidina de una fruta que contiene oligoproantocianidina; y lactoferrina.
7. El procedimiento de la reivindicación 6, que comprende además: evitar que crezcan microorganismos en la mezcla.
- 20 8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la prevención comprende esterilizar la mezcla.
9. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la prevención comprende pasteurizar la mezcla.
10. El procedimiento de cualquiera de las reivindicaciones 7-9, en el que la prevención comprende enfriar la mezcla.
11. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que la formación de la mezcla comprende formar una mezcla que incluye al menos un componente líquido.
- 25 12. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la formación de la mezcla comprende formar una mezcla que incluye un zumo de la fruta que contiene oligoproantocianidina.
13. El procedimiento de la reivindicación 11, en el que la formación de la mezcla comprende formar una mezcla que incluye la fruta que contiene oligoproantocianidina o la parte que incluye oligoproantocianidina de la fruta que contiene oligoproantocianidina en forma seca.
- 30 14. El procedimiento de la reivindicación 11, que comprende adicionalmente: secar la mezcla.
15. El procedimiento de la reivindicación 6, en el que la formación de la mezcla comprende formar una mezcla que incluye únicamente componentes secos.