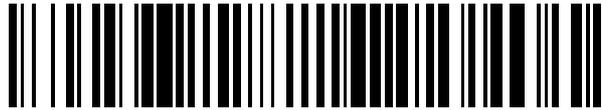


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 704 025**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/73** (2006.01)

**A61K 33/04** (2006.01)

**A61K 33/30** (2006.01)

**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.05.2010 PCT/EP2010/056190**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.11.2010 WO10130629**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.05.2010 E 10720010 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.11.2018 EP 2429560**

54 Título: **Composición de estimulación inmune que comprende un extracto de Aronia sp. en combinación con selenio**

30 Prioridad:

**12.05.2009 EP 09006414**

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

**13.03.2019**

73 Titular/es:

**URSAPHARM ARZNEIMITTEL GMBH (100.0%)  
Industriestrasse 35  
66129 Saarbrücken, DE**

72 Inventor/es:

**ESCHMANN, KLAUS y  
BEUTH, JOSEF**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

ES 2 704 025 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).

## DESCRIPCION

Composición de estimulación inmune que comprende un extracto de *Aronia* sp. en combinación con selenio

5 La presente invención se refiere a una composición que comprende ciertas cantidades de extracto de *Aronia* y selenio útil para activar macrófagos in vitro, para la preparación de un medicamento y composiciones farmacéuticas o nutraceuticas que comprenden el mismo, en donde el extracto de *Aronia* se puede obtener exprimiendo frutos de *Aronia* enteros o concentrando zumo de *Aronia*.

10 **La técnica anterior**

15 La *aronia* (chokeberry) es un arbusto de hoja caduca que pertenece a la familia vegetal Rosaceae. Dentro del género *Aronia* se conocen varias especies e híbridos, como la *Aronia melanocarpa* (chokeberry negro), *Aronia arbutifolia* (chokeberry rojo) y *Aronia x prunifolia* (chokeberry púrpura). Las frutas de la *Aronia* son pequeñas pepitas y se sabe que su zumo es astringente y tiene un alto contenido de vitamina C y otros antioxidantes.

20 Debido a su intenso color frutal, la *Aronia* se usa como agente colorante para bebidas y otros productos alimenticios, como se divulga, por ejemplo, en la US-P-6.703.056, la WO 2005 058052 y la WO 2006 138419. Además de esto, los frutos de *Aronia* han despertado interés debido a sus cualidades antioxidantes. Por ejemplo, se sabe que la *Aronia melanocarpa* tiene contenidos altos de compuestos fenólicos, especialmente antocianinas, que se encuentran principalmente en la piel de las bayas para la protección UV de la pulpa y las semillas. Estas antocianinas dan a la *Aronia melanocarpa* una extraordinaria fuerza antioxidante. Un parámetro que muestra la capacidad de un compuesto o un extracto para lidiar con el estrés oxidante es la capacidad de absorción de radicales de oxígeno u ORAC. La *Aronia* muestra valores de ORAC altos y, por lo tanto, también se usa/añade como alimento funcional o nutraceutico. Por ejemplo, la US 2007 0020358 divulga un concentrado de bebida deportiva que puede incluir *Aronia* como un ingrediente nutraceutico. Una composición edulcorante funcional que comprende un extracto de *Aronia* como antioxidante se divulga en la WO 2007 06 1900, y la WO 2007 076857 enseña una composición de goma de mascar que contiene *Aronia* que se usa como fuente de antioxidantes.

30 Adicionalmente a la misma, se sabe de la técnica anterior que la *Aronia* o los compuestos de la misma pueden usarse para la preparación de composiciones farmacéuticas o composiciones nutraceuticas y suplementos alimenticios. Por ejemplo, la DE 10 2004 029 887 A1 divulga un suplemento dietético a base de hollejo que comprende un extracto de la piel de frutos de *Aronia*, se describe que tal suplemento dietético tiene un factor de protección de radicales alto. La DE 10 2004 052 882 A1 enseña un suplemento dietético a base de una selección específica de concentrados de frutas y legumbres, que comprende, entre otros, un concentrado de zumo de frutas de *Aronia*. Se describe que dicho suplemento dietético fortalece el sistema inmunológico, en donde se expone que la combinación de ingredientes influye sinérgicamente en el impacto de los ingredientes.

40 La WO 2001 015553 enseña que los suplementos alimenticios que contienen extracto de fruta de *Aronia* se pueden usar para inhibir una inflamación mediada por la ciclooxigenasa, es decir, se divulga que los extractos de *Aronia* tienen una actividad antiinflamatoria debido a una inhibición de la actividad de COX-2, preferentemente sobre la actividad de la COX-1.

45 La DE 10 2005 046 474 A1 enseña a usar un extracto de la piel de la fruta de *Aronia* sp. para el tratamiento profiláctico y terapéutico de enfermedades/afecciones bacterianas, micóticas y/o inflamatorias. El efecto logrado se atribuye a un efecto antibacteriano y antimicótico de dicho extracto. No se divulga una influencia directa del extracto en el sistema inmune.

50 Además de eso, la WO 2002 005827 enseña el uso de extracto de *Aronia* para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer cerebral y divulga además una composición nutraceutica para el tratamiento del cáncer que comprende uno o más flavonoides de *Aronia* y los micronutrientes selenio y zinc.

55 El N° de entrada del Database Chemical Abstracts Service: 141:325705 ("Immunotropic preparation Vitulin B") y la RU 2 236 244 C2 divulgan una composición que comprende entre otras cosas extracto de *Aronia melanocarpa*, selenio y zinc. Valcheva-Kuzmanova et al. (Folia Medica, University of Medicine, Vol. 48, N° 2, 1 de enero de 2006, p. 11-17) resumen los efectos médicos del zumo de fruta de *Aronia melanocarpa* y tratan entre otras cosas sus efectos antiinflamatorios, inmunomoduladores, bacteriostáticos y antivirales. Gasiorowski et al. (Cellular and Molecular Biology Letters, Vol. 5, N° 4, 1 de enero de 2000, p. 469-481) investigaron el efecto inmunomodulador de una composición que comprende un extracto de *Aronia melanocarpa* anthocyan. Se descubrió que este extracto aumentaba las células NK, la proporción CD4/CD8, las células que expresan Ki-67 y el número de células B. La JP 2005-213242 divulga composiciones que comprenden extracto de *aronia* para tratar y prevenir trastornos inmunológicos.

65 Hoffmann et al. (Molecular nutrition & Food Research, Vo. 52, N° 11, Noviembre 2008, p. 1273-1280) revisan los efectos del selenio en el sistema inmune. Overbeck et al. (Archivum Immunologiae et Therapiae

Experimentalis, Vol. 56, Nº 1, febrero de 2008, p. 15-30) es un artículo de revisión sobre los efectos inmunoestimuladores del suplemento de zinc en casos con deficiencias de zinc.

5 Los micronutrientes son necesarios y están involucrados, por ejemplo, como cofactores para enzimas, en una pluralidad de procesos del metabolismo y son, por lo tanto, ingredientes importantes en los alimentos. Por consiguiente, y como se enseña en la técnica anterior, los micronutrientes pueden añadirse a diferentes tipos de alimentos, por ejemplo, a alimentos funcionales para lograr o mejorar ciertas funciones fisiológicas.

10 Con respecto al sistema inmune, se sabe que los micronutrientes selenio y zinc afectan, además de a otras funciones fisiológicas, al estado inmune. Se sabe que el selenio se requiere para una actividad adecuada de los neutrófilos, macrófagos, células NK, linfocitos T y algunos otros mecanismos inmunes, y un suministro insuficiente de selenio para el cuerpo humano puede dar como resultado un sistema inmune debilitado. Se sabe que el zinc es un ion importante para las enzimas, proteínas y factores de transcripción, y está implicado por lo tanto en muchas funciones del cuerpo incluyendo también respuestas inmunes.

15 Como ya se ha indicado anteriormente, las combinaciones de un extracto de *Aronia* con por lo menos un micronutriente, en particular con selenio y/o zinc, son conocidas de la técnica anterior. Sin embargo, esto a menudo parece ser una "combinación por casualidad". Por ejemplo, la WO 2005 058052 y la WO 2006 138419 enseñan el uso de *Aronia* como un agente colorante, mientras que el zinc y el selenio están comprendidos en una mezcla estabilizadora para el producto alimenticio enseñado en estas referencias. En otros casos, la combinación de extracto de *Aronia* con selenio y/o zinc como se enseña en la técnica anterior puede considerarse como una consecuencia del propósito del producto. Por ejemplo, la bebida deportiva divulgada en la US 2007 0020358 enseña a usar *Aronia* debido a su alto valor ORAC, mientras que el selenio y el zinc se añaden como micronutrientes. Por lo tanto, en la técnica anterior no se enseña que estos componentes se combinen para lograr un cierto efecto, que es el resultado de la acción interrelacionada de estos componentes. En particular, el estado de la técnica no parece indicar que debido a la combinación selectiva de un extracto de *Aronia* con selenio y/o zinc, puede obtenerse una composición que tenga un efecto de estimulación inmune mejorado.

30 Incluso si se conocen diferentes tipos de agentes estimulantes inmunes, hay una necesidad continua de agentes estimulantes inmunes mejorados ya que, especialmente debido al estrés ambiental creciente de la vida moderna, el sistema inmune de los seres humanos está continuamente expuesto a varios tipos de estrés. A menudo, los agentes basados en una base natural o biológica son preferibles a los productos farmacéuticos sintéticos, ya que, por un lado, a menudo son mejor aceptados por el paciente o el consumidor y también pueden fabricarse de una manera más rentable, especialmente en el caso cuando puede usarse per se un extracto de planta, ya que no es necesaria la síntesis química y/o la purificación de compuestos efectivos.

35 Por lo tanto, queda claro de lo anterior que hay una necesidad de sustancias o composiciones mejoradas que tengan efectos estimulantes inmunes.

#### 40 **Sumario de la invención**

En las líneas de los extensos estudios que llevaron a la presente invención, los inventores han descubierto que micronutrientes particulares, concretamente el selenio, ya sea solo o en combinación con zinc, tiene un efecto ventajoso sobre los efectos beneficiosos de los extractos de *Aronia*. Sorprendentemente se ha descubierto que un extracto de *Aronia* al que se le ha añadido una cantidad particular de selenio o selenio y zinc aumenta la actividad de los macrófagos in vitro en gran medida en comparación con una composición que simplemente contiene un extracto de *Aronia* natural. La actividad de los macrófagos aumentada hace que la presente composición sea particularmente adecuada para el tratamiento de enfermedades o afecciones inflamatorias, infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, infecciones víricas, infecciones parasitarias.

50 Por lo tanto, el problema anterior se ha resuelto proporcionando una composición que comprende un extracto de *Aronia* en una cantidad de por lo menos aproximadamente 10 µg/mg y selenio en una cantidad de aproximadamente 0,0001 µg/mg a aproximadamente 2,0 µg/mg, en donde el extracto de *Aronia* se puede obtener exprimiendo frutos de *Aronia* completos o concentrando zumo de *Aronia*. Se apreciará en este contexto que, de acuerdo con la presente invención, se añade selenio al extracto de *Aronia*. En otras palabras, la cantidad de selenio o la combinación de selenio y zinc está más allá del intervalo de fluctuación natural en un extracto de *Aronia*.

55 De acuerdo con una realización, la composición comprende además zinc adicional, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 0,0001 mg/mg a aproximadamente 0,5 mg/mg.

60 De acuerdo con otra realización, la composición comprende además por lo menos un excipiente farmacéuticamente o nutracéuticamente aceptable o una mezcla de los mismos.

65 De acuerdo con otra realización más, la composición se formula como una composición farmacéutica, preferiblemente diseñada para administración oral, como peroral, bucal, sublingual, mucosa, o tópica.

De acuerdo con otra realización más, la composición se formula como una composición nutracéutica o suplementaria nutracéutica, preferiblemente en la forma de una solución o suspensión ingerible, que comprende el ingrediente activo en forma disuelta o suspendida, o como una forma de administración sólida, como en la forma de comprimidos, cápsulas, grageas, o añadida como suplemento alimenticio a los productos alimenticios diarios.

Una realización adicional es el uso de la composición para la preparación de un medicamento. Los usos ejemplares de tal medicamento pueden ser - sin formar parte de la presente invención - el tratamiento de enfermedades o afecciones inflamatorias, infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, infecciones víricas, infecciones parasitarias y combinaciones de las mismas. La enfermedad o afección inflamatoria puede estar preferiblemente asociada con enfermedades autoinmunes, enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple, esclerodermia y enfermedad de injerto contra huésped.

Además se proporciona la composición para su uso como un medicamento, y un uso in vitro de la composición para activar macrófagos.

### **Breve descripción de las figuras**

Las Figs. 1 y 2 muestran la evaluación de la concentración óptima de extracto de *Aronia* sobre la actividad de los macrófagos de la línea celular de macrófagos de monocitos leucémicos de ratón RAW 264.7. Puede observarse que las concentraciones por encima de aproximadamente 40 µg/ml disminuyen la actividad de los macrófagos.

La Fig. 3 muestra la actividad estimulante inmune del selenio empleando macrófagos de la línea celular RAW 264.7. Puede observarse que las concentraciones por encima de aproximadamente 8 µg/ml disminuyen la actividad de los macrófagos.

La Figura 4 muestra el efecto estimulante inmune de una composición de acuerdo con la presente invención por medio de la actividad de los macrófagos de la línea celular RAW 264.7 en dependencia de la concentración de selenio añadid. La composición comprende un extracto de *Aronia* en una concentración de 4,875 µg/ml.

### **Descripción detallada de la presente invención**

La presente invención divulga una composición que comprende una combinación de un extracto de *Aronia* y el micronutriente selenio. La composición también puede comprender zinc como micronutriente adicional.

De acuerdo con la presente descripción, el extracto de *Aronia* se origina a partir de una especie de *Aronia* que es farmacéutica y nutracéuticamente aceptable o es una mezcla de diferentes especies de *Aronia* farmacéuticamente/nutracéuticamente aceptables. Las especies de *aronia* que pueden usarse incluyen, pero no están limitadas a, *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia* y *A. x prunifolia*. en donde se prefiere la *Aronia melanocarpa*.

El extracto de *Aronia* puede derivarse de la fruta entera. El extracto puede basarse en frutas frescas o zumos de frutas. Si se desea, uno o más compuestos activos particulares pueden enriquecerse selectivamente en el extracto. Un extracto de *Aronia* puede obtenerse con el conocimiento general de la persona experta en la técnica. Otras maneras para preparar un extracto de *Aronia* se divulgan, por ejemplo, en la DE 102004029887 y la DE102005046474. Los métodos de extracción generales para aislar material vegetal se divulga por ejemplo en la FR2892933 y Ljubuncic P.et al. (J. Ethnopharmacol. Oct 3, 101(1-3) (2005),153-61).

Un extracto de *Aronia* puede prepararse usando frutas enteras como material de partida. Las frutas se lavan con agua a una temperatura de entre 30 y 50° C, preferiblemente a 40° C y después se tratan enzimáticamente con, por ejemplo una inulinasa, preferiblemente fructozima, por disrupción celular parcial o completa. Las enzimas adecuadas, así como las condiciones de reacción, son bien conocidas por los expertos en la técnica. El residuo obtenido después de exprimir se extrae con una solución de sulfito de potasio acuosa (aprox. 10-30 p/v) durante 1 a 3 horas a temperatura ambiente (aproximadamente 21-24° C). El extracto se trata con enzimas que degradan la pectina, como pectinex o pectinol, a un pH de aproximadamente 3-4, preferiblemente pH 3, durante 0,5-2 horas. Después, el extracto se destila al vacío a una temperatura de alrededor de 40-58° C, preferiblemente 45-50° C, produciendo extracto de *Aronia* con un contenido de agua residual de aproximadamente 30-40 p/p.

La composición de acuerdo con la presente invención comprende el extracto de *Aronia* en una concentración de por lo menos aproximadamente 10 µg/mg, preferiblemente de 20 µg/mg a 950 µg/mg. Aún más preferiblemente de 40 µg/mg a 900 µg/mg. Se prefiere aún más una concentración en el intervalo de 50 µg/mg a 800 µg/mg. Se prefiere aún más una concentración de 60 µg/mg a 800 µg/mg. Lo más preferido es que el extracto de *Aronia* se concentre en un intervalo de 80 µg/mg a 800 µg/mg.

Una composición fluida comprende extracto de *Aronia* a una concentración de 10 µg/mg a 200 µg/mg, más preferiblemente de 60 µg/mg a 150 µg/mg y lo más preferido de 80 µg/mg.

5 Una composición sólida o seca comprende extracto de *Aronia* a una concentración de 100 µg/mg a 990 µg/mg, más preferiblemente de 300 µg/mg a 800 µg/mg, incluso más preferiblemente de 400 µg/mg a 700 µg/mg y lo más preferido de 600 µg/mg.

10 Se pretende que los valores signifiquen la concentración final del extracto de *Aronia* en la composición de acuerdo con la presente invención, es decir, la concentración con la que el extracto se administra a un paciente o un sujeto con necesidad de ello.

15 De acuerdo con la presente invención, la composición también comprende el micronutriente selenio en una cantidad de 0,001 µg/mg a 2,0 µ/mg. De acuerdo con una realización la composición comprende extracto de *Aronia* y una combinación de los micronutrientes selenio y zinc. Como se usa en la presente que comprende un micronutriente se entiende que significa que se añaden cantidades adicionales de dicho micronutriente(s) además de los micronutrientes que pueden estar ya presentes en el extracto de *Aronia*. El extracto de *Aronia*, particularmente de la especie *Aronia melanocarpa*, puede contener cantidades naturales de 4 mg/kg de zinc y 20 µg/kg de selenio. Se apreciará que estas cantidades naturales pueden variar dependiendo de las frutas específicas y de las condiciones de crecimiento.

20 Un análisis realizado recientemente en un laboratorio certificado reveló, entre otros, los siguientes contenidos de metales en dicho extracto de *Aronia* (precisión de los valores ± 20%):

25

Tabla 1

Metal	Dimensión	Cantidad
selenio	mg/kg	< 0.03
zinc	mg/kg	~4.0

30

35 El micronutriente(s) selenio o selenio y zinc pueden proporcionarse, por ejemplo, pero no se está limitado a ellos, como sales inorgánicas, como cloruros, sulfatos y similares, como sales orgánicas y otras formas biodisponibles, como quelatos de aminoácidos o combinaciones de los mismos. Como se usa en la presente los términos "selenio" y "zinc" se pretende que comprendan cualquier compuesto que contenga selenio y zinc, respectivamente, incluyendo sales, complejos u otras formas de dichos micronutrientes, incluyendo también selenio o zinc elemental. Las formas aceptables de selenio y zinc son bien conocidas por los expertos en la técnica. En el caso de concentraciones o intervalos de concentraciones dadas de dichos micronutrientes, se pretende que dichos valores indiquen la concentración de selenio o el ion selenio, y la concentración de zinc o el ion zinc, respectivamente.

40

45 Por ejemplo, pero no limitando la presente invención a ello, el selenio puede proporcionarse como selenometionina, selenio elemental, varias sales de selenio, como cloruro de selenio y levadura de selenio o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, el selenio se proporciona como levadura de selenio o selenito de sodio/selenato de sodio.

50

50 Por ejemplo, pero no limitando la presente invención a ello, el zinc puede proporcionarse como acetato de zinc, ascorbato de zinc, cloruro de zinc, citrato de zinc, gluconato de zinc, lactato de zinc, sulfato de zinc, zinc quelado de aminoácidos, o combinaciones de los mismos.

55

55 La composición puede proporcionarse en forma líquida o en forma seca/sólida, por ejemplo, en una forma liofilizada. La composición puede proporcionarse en forma estéril.

60 Durante los extensos estudios que han llevado a la presente invención, se ha descubierto sorprendentemente que una composición que comprende un extracto de *Aronia* y adicionalmente selenio añadido o adicionalmente selenio y zinc añadido tiene un efecto estimulante inmune mejorado en comparación con los compuestos individuales de la composición de acuerdo con la presente invención. Sin desear estar ligado a ninguna teoría, parece que el efecto estimulante inmune beneficioso de la composición de acuerdo con la presente invención se basa en un efecto sinérgico de la mezcla compleja de compuestos comprendidos en el extracto de *Aronia* en combinación con el selenio adicionalmente añadido. Se puede lograr un efecto sinérgico adicional añadiendo zinc a la composición que comprende extracto de *Aronia* y selenio.

65

65 En particular, la composición de acuerdo con la presente invención ha demostrado que aumenta la actividad de los macrófagos in vitro. Los macrófagos pertenecen al sistema inmune innato que, por ejemplo, es responsable de destruir las células infectadas por virus, parásitos y células tumorales. Los macrófagos representan

monocitos maduros, que a su vez pertenecen a los glóbulos blancos. Los macrófagos fagocitan y digieren microorganismos invasores, incluso protozoos, restos, cuerpos extraños, así como células dañadas, muertas y senescentes.

5 Las aplicaciones médicas específicas mencionadas en la descripción no forman parte de la presente invención.

10 Por consiguiente, la composición de acuerdo con la presente invención puede usarse para estimular el sistema inmune. En particular, la composición de acuerdo con la presente invención puede usarse para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una variedad de enfermedades o afecciones que se basan en una actividad reducida del sistema inmune, o que se pueden prevenir o tratar estimulando el sistema inmune. En particular, pueden tratarse o prevenirse enfermedades o afecciones que se basan en una actividad de macrófagos reducida o que pueden prevenirse o tratarse mejorando la actividad de macrófagos.

15 Dentro de la presente invención, se pretende que tratamiento signifique un tratamiento profiláctico o terapéutico, en donde el tratamiento terapéutico puede ser paliativo o curativo.

20 Como la composición de acuerdo con la presente invención se caracteriza por una actividad estimulante inmune, también puede usarse para la preparación de un medicamento diseñado para terapia adyuvante durante el tratamiento de enfermedades cuyo tratamiento se ve afectado beneficiosamente al estimular el sistema inmune. Además, la composición de acuerdo con la presente invención también puede usarse para la preparación de un suplemento dietético para ayudar al sistema inmune.

25 La composición puede estar diseñada para el tratamiento de enfermedades o afecciones inflamatorias, infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, infecciones víricas, infecciones parasitarias y combinaciones de las mismas.

30 En particular la composición puede usarse para aliviar o mejorar cualquier trastorno o enfermedad incluyendo, pero no limitado a, choque séptico, choque hemodinámico, síndrome de sepsis, lesión post reperfusión isquémica, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad de injerto contra huésped, malaria, infección por micobacterias, meningitis, psoriasis, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedades fibróticas, caquexia, rechazo de injertos, cánceres como linfoma de células T cutáneo, enfermedades que implican angiogénesis, enfermedades autoinmunes, enfermedades inflamatorias de la piel, enfermedades inflamatorias del ojo, enfermedades inflamatorias del intestino como enfermedad de Crohn y colitis, artritis osteo- y reumatoide, espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, enfermedad de Still de adultos, uveítis, granulomatosis de Wegener, enfermedad de Behcet, síndrome de Sjogren, sarcoidosis, conjuntivitis, polimiositis, dermatomiositis, esclerosis múltiple, ciática, síndrome de dolor regional complejo, daño por radiación, lesión alveolar hiperóxica, enfermedad periodontal, VIH, diabetes mellitus no insulino dependiente, lupus eritematoso sistémico, glaucoma, fibrosis pulmonar idiopática, displasia broncopulmonar, enfermedad retiniana, esclerodermia, osteoporosis, isquemia renal, infarto de miocardio, apoplejía cerebral, isquemia cerebral, nefritis, hepatitis, glomerulonefritis, alveolitis fibrosante criptogénica, psoriasis, rechazo al trasplante, dermatitis atópica, vasculitis, alergia, rinitis alérgica estacional, obstrucción de las vías respiratorias reversible, síndrome de dificultad respiratoria en adultos, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y/o bronquitis. Además, puede facilitarse la curación de heridas.

45 Los ejemplos de infecciones bacterianas o microbianas comprenden cualquier infección con bacterias gram positivas o gram negativas. Las afecciones patológicas de infecciones microbianas que pueden tratarse o prevenirse por las presentes composiciones incluyen, pero no están limitadas a, afecciones como enfermedad de las vías respiratorias superiores crónica, infección de heridas, osteomielitis, endocarditis, infecciones polimicrobianas de la piel, asma bronquial, sinusitis crónica, fibrosis quística o acné vulgar.

50 Ejemplos de infecciones fúngicas incluyen, por ejemplo, blastomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis, histoplasmosis, esporotricosis, cromoblastomicosis, lobomicosis, dermatofitosis, dermatomicosis, onicomicosis, piedra, micetoma, fusariosis, pitiriasis versicolor, tinea barbae, tinea capitis, tinea corporis, tinea cruris, tinea favosa, tinea nigra, tinea pedis, feohifomicosis, rinosporidiosis, aspergilosis, queratitis micótica, candidiasis.

55 Las infecciones virales pueden estar provocadas por virus que incluyen, pero no están limitados a, lentivirus como los virus de inmunodeficiencia humana tipos 1 y 2 (VIH), virus linfotrópico de células T humano tipo 1 y 2 (HTLV-I y HTLV-II), SIV, EIAV (virus de la anemia infecciosa equina), BIV, FIV, CAEV, VMV y MMLV (virus de leucemia murina de Moloney). Tales infecciones víricas también pueden estar provocadas por el virus de la hepatitis A, el virus de la hepatitis B, el virus de la hepatitis C, el virus de la hepatitis D, el virus de la hepatitis E, el virus de la hepatitis G, el virus espumoso humano, o por virus del herpes humano (por ejemplo, virus del herpes simple tipo 1, virus del herpes simple tipo 2, virus del herpes simple tipo 3 (también conocido como virus de Varicela-zoster), virus del herpes simple tipo 4 (también conocido como virus de Epstein Barr o EBV), virus del herpes simple tipo 5, virus del herpes simple tipo 7). Tales infecciones víricas también pueden estar provocadas por virus de la gripe (tipos A, B

o C), virus de parainfluenza humana, virus sincitial respiratorio, virus de la viruela (virus variola), virus de la viruela del mono, virus vacuna, virus del papiloma humano, parechovirus humano 2, virus de las paperas, virus del sarampión, virus de la rubéola, virus Semliki Forest, virus del Nilo Occidental, virus de la fiebre de la garrapata de Colorado, virus de la fiebre aftosa, virus del ébola, virus de Marburg, poliomavirus, virus del TT, virus Lassa, virus de la coriomeningitis linfocítica, virus de la estomatitis vesicular, rotavirus, virus de la varicela, parvovirus, citomegalovirus, virus de encefalitis, adenovirus, ecovirus, rinovirus, filovirus, coxachievirus, coronavirus (como el coronavirus asociado al SARS), virus del dengue, virus de la fiebre amarilla, hantavirus, virus de fiebre hemorrágica regionales, virus del molusco, poliovirus, rabiesvirus, etc.

Los ejemplos de infecciones parasitarias incluyen, pero no están limitados a, la malaria. Las infecciones parasitarias pueden estar provocadas por organismos como protozoos, helmintos y ectoparásitos.

El selenio se añade como micronutriente a la composición que comprende extracto de *Aronia*. El selenio se añade en una o más formas adecuadas como se ha expuesto anteriormente.

Durante los extensos estudios que llevaron a la presente invención, se descubrió sorprendentemente que el efecto beneficioso, es decir, el efecto estimulante inmune, del selenio que se añade al extracto de *Aronia* depende de la concentración de selenio añadida.

De acuerdo con la presente invención, se añade selenio a la composición a una concentración final de 0,0001 µg/mg a 2,0 µg/mg. Preferiblemente, se puede añadir selenio a la composición en un intervalo de 0,0005 µg/mg a 1,0 µg/mg. Aún más preferiblemente de 0,001 µg/mg a 0,5 µg/mg. Se prefiere aún más una concentración que varía de 0,001 µg/mg a 0,25 µg/mg. Se prefiere aún más una concentración que varía de 0,001 µg/mg a 0,2 µg/mg. Lo más preferido es una concentración entre 0,0012 µg/mg y 0,1 µg/mg.

Una composición fluida de la presente invención comprende selenio a una concentración de 0,0001 µg/mg a 0,01 µg/mg, más preferiblemente de 0,0005 µg/mg a 0,005 µg/mg, lo más preferible de 0,0008 µg/mg a 0,003 µg/mg e incluso más preferible de 0,0012 µg/mg.

Una composición sólida o seca de la presente invención comprende selenio a una concentración de 0,001 µg/mg a 0,5 µg/mg, más preferiblemente de 0,005 µg/mg a 0,01 µg/mg, lo más preferible de 0,003 µg/mg a 0,02 µg/mg e incluso más preferible de 0,01 µg/mg.

Los valores proporcionados se pretende que signifiquen la concentración final de selenio añadido en la composición de acuerdo con la presente invención, es decir, la concentración con la que el selenio añadido se administra a un paciente o un sujeto con necesidad de ello.

La concentración final de selenio añadido a la composición de acuerdo con la presente invención puede elegirse también en vista de las cantidades de selenio diarias requeridas. Por consiguiente, se pueden considerar factores como, por ejemplo, la forma de administración pretendida y la cantidad/dosificación de la composición administrada por día y sujeto. Tales consideraciones están dentro del conocimiento general del experto en la técnica.

De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, puede añadirse zinc a la composición que comprende extracto de *Aronia* y selenio, en una o más formas adecuadas como se ha expuesto anteriormente, para formular una composición de acuerdo con la presente invención.

El zinc puede añadirse a la composición de la presente invención en una concentración de 0,0001 mg/mg a 0,5 mg/mg. Preferiblemente, el zinc puede añadirse a la composición en un intervalo de 0,0005 mg/mg a 0,1 mg/mg. Aún más preferido de 0,001 mg/mg a 0,08 mg/mg. Se prefiere aún más una concentración que varía de 0,0015 mg/mg a 0,006 mg/mg. Se prefiere incluso más una concentración que varía de 0,002 mg/mg a 0,04 mg/mg.

Se pretende que los valores proporcionados signifiquen la concentración final de zinc añadido en la composición de acuerdo con la presente invención, es decir, la concentración con la que se administra el zinc añadido a un paciente o un sujeto con necesidad de ello.

La concentración final de zinc añadido a la composición de acuerdo con la presente invención puede seleccionarse también en vista de las cantidades de zinc diarias requeridas. Por consiguiente, pueden considerarse factores como, por ejemplo, la forma de administración pretendida y la cantidad/dosificación de la composición administrada por día y sujeto. Tales consideraciones están dentro del conocimiento general del experto en la técnica.

Con respecto a las concentraciones con las que se añade selenio y zinc a la composición de acuerdo con la presente invención, cada uno de los micronutrientes se puede añadir a una concentración o a un intervalo de concentración como se ha indicado anteriormente.

La composición de acuerdo con la presente invención puede administrarse por sí misma, por ejemplo en

forma líquida o sólida, o puede formularse como composición farmacéutica o como composición nutracéutica.

5 Dicha composición farmacéutica o composición nutracéutica comprende como un ingrediente activo una  
composición de acuerdo con la presente invención y por lo menos un excipiente  
farmacéuticamente/nutraceuticamente aceptable o una mezcla de excipientes farmacéuticamente/nutraceuticamente  
aceptables. Los excipientes adecuados incluyen, pero no están limitados a diluyentes, portadores, disgregantes,  
aglutinantes, deslizantes, lubricantes, agentes de recubrimiento y similares o mezclas de los mismos, que podrían  
10 ser necesarios para la preparación de las formas de dosificación finales. Las composiciones farmacéuticas o  
nutracéuticas de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mezclando el ingrediente activo,  
opcionalmente en combinación con otros compuestos activos, con uno o más excipientes adecuados por métodos  
bien conocidos por el experto en la técnica. Preferiblemente, las composiciones farmacéuticas o nutracéuticas se  
preparan bajo condiciones estériles.

15 La composición farmacéutica o la composición nutracéutica de acuerdo con la presente invención puede  
comprender del 1% al 99% en peso de dicho excipiente(s) farmacéuticamente aceptable, preferiblemente del 10% al  
95% en peso, y lo más preferido del 20% al 75% en peso.

20 La selección de uno o más excipientes apropiados y sus cantidades respectivas está dentro del  
conocimiento general del experto en la técnica. El excipiente(s) puede seleccionarse con respecto a la vía de  
administración pretendida.

25 Las composiciones farmacéuticas o nutracéuticas de acuerdo con la presente invención pueden formularse  
de una variedad de formas para administrarse a seres humanos y/o animales. La composición farmacéutica o  
nutracéutica de acuerdo con la presente invención puede formularse en forma líquida, es decir, por ejemplo, en  
forma de soluciones, dispersiones, emulsiones y geles, o en una forma sólida. La composición farmacéutica así  
como la composición nutracéutica pueden diseñarse para una liberación inmediata y/o para una liberación  
sostenida. Por consiguiente, también se describen en la presente las formas de depósito de la composición de  
acuerdo con la presente invención.

30 De acuerdo con una realización preferida de la presente invención, la composición se formula como una  
composición farmacéutica. Dicha composición farmacéutica comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de  
una composición de acuerdo con la presente invención junto con uno o más excipientes farmacéuticamente  
aceptables. Una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición de acuerdo con la presente invención es una  
cantidad que cuando se administra a un paciente o un sujeto con necesidad de ello, es capaz de ejercer un efecto.

35 A modo de ejemplo, una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede formularse  
para administración oral, como peroral, bucal, sublingual, o mucosal, o para la administración tópica.

40 De acuerdo con una realización preferida de la composición farmacéutica de la presente invención,  
dicha composición farmacéutica está diseñada para administración oral. Dicha composición farmacéutica puede  
diseñarse como una solución o suspensión ingerible, que comprende el ingrediente activo en forma disuelta o  
suspendida, o como una forma de administración sólida, como, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, grageas,  
pólvos, gránulos.

45 De acuerdo con otra realización preferida de la composición farmacéutica de la presente invención, dicha  
composición farmacéutica está diseñada para administración tópica. La administración tópica puede lograrse, por  
ejemplo, pero sin limitar la presente invención a ello, en forma de pomadas, cremas, lociones, soluciones y elixires.

50 Además, la composición de acuerdo con la presente invención puede usarse para la preparación de una  
composición nutracéutica. Por lo tanto, y de acuerdo con otra realización preferida de la presente invención, la  
composición se formula como una composición nutracéutica.

55 Como se usa en la presente, se pretende que una composición nutracéutica signifique una composición  
que puede considerarse como un alimento o un suplemento alimenticio, que se usa para mejorar la dieta con el fin  
de proporcionar bienestar, beneficios para la salud.

60 Una composición farmacéutica/nutraceutica de acuerdo con la presente invención comprende una cantidad  
eficaz de una composición de acuerdo con la presente invención junto con uno o más excipientes  
farmacéuticamente/nutraceuticamente aceptables. Una cantidad eficaz de una composición de acuerdo con la  
presente invención es una cantidad que cuando se administra a un sujeto con necesidad de ello, es capaz de ejercer  
un efecto.

65 A modo de ejemplo, pero sin limitar la presente invención a él, una composición nutracéutica de acuerdo  
con la presente invención puede formularse para administración oral, como peroral, bucal, sublingual o mucosal.

De acuerdo con una realización preferida de la composición nutracéutica de acuerdo con la presente invención, dicha composición nutracéutica está diseñada para administración oral. Una composición nutracéutica para administración oral puede estar diseñada como una solución o suspensión ingerible, que comprende el ingrediente activo en forma disuelta o suspendida, o como una forma de administración sólida, como en forma de comprimidos, cápsulas, grageas.

La composición nutracéutica de acuerdo con la presente invención puede formularse para ser añadida como un suplemento alimenticio a los productos alimenticios diarios. Por ejemplo, la composición nutracéutica puede añadirse a bebidas, cereales, etc.

Se apreciará que la cantidad a administrar depende del sujeto a tratar, teniendo en cuenta su edad, peso y otras condiciones personales.

La presente invención se describirá ahora a modo de ejemplos específicos que son solo para ilustración.

### Ejemplos

#### Preparación del extracto de *Aronia*.

Las frutas de *Aronia* recién congeladas (chokeberries) se han usado para preparar el extracto de *Aronia* (especie botánica: *Aronia melanocarpa*). El zumo exprimido acuoso se concentró para obtener una proporción de frutas a concentrado de fruto exprimido (nativo) de 8-10 a 1.

#### Efecto del extracto de *Aronia* y del extracto de *Aronia* con un micronutriente sobre la actividad de los macrófagos

Células: se adquirió la línea celular (RAW 264.7, macrófagos murinos) de la America Type Culture Collection y se cultivó según lo recomendado.

Ensayo de quimioluminiscencia: se disolvió lucigenina (Sigma Chemicals Co.) en solución salina equilibrada de Hank (HBSS; Gibco Co.) a una concentración de  $2 \times 10^{-3}$  M. Esta solución madre se diluyó adicionalmente en HBSS antes de su uso. se incubaron 1 ml de células ( $5 \times 10^6$  células/ml) con 0,1 ml de solución de extracto de *Aronia* y extracto de *Aronia* junto con selenita de sodio (cinética de dosis para cada componente y las combinaciones como se documenta en las figuras). Todos estos constituyentes se mantuvieron en una incubadora ( $37^\circ$  C, 5% de  $\text{CO}_2$ ) durante 30 min, luego se centrifugaron a 1200 U/min durante 5 min y se resuspendieron en medio esencial mínimo (MEM, Gibco Co.).

La mezcla de la reacción consistió de una suspensión (0,25 ml) a una concentración de  $5 \times 10^6$  PMNL (leucocitos polimorfonucleares)/ml respectivamente monocitos/macrófagos, 50  $\mu$ l de zymosan, y 0,45 ml de medio que contenía  $2 \times 10^{-6}$  M de lucigenina. La mezcla de la reacción se mantuvo a  $37^\circ$  C antes de que se realizasen las mediciones de quimioluminiscencia con un luminómetro (Luminoskan 1251, Labsystems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Manual del usuario de 1995).

**REIVINDICACIONES**

- 5      **1.** Una composición que comprende extracto de *Aronia* en una cantidad de por lo menos 10 µg/mg y selenio en una cantidad de 0,0001 µg/mg a 2,0 µg/mg, en donde el extracto de *Aronia* se puede obtener exprimiendo frutas de *Aronia* o concentrando zumo de *Aronia*.
- 10     **2.** La composición de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además zinc adicional.
- 10     **3.** La composición de acuerdo con la reivindicación 2, que comprende zinc a una concentración de 0,0001 mg/mg a 0,5 mg/mg.
- 15     **4.** La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición comprende además por lo menos un excipiente farmacéuticamente o nutracéuticamente aceptable o una mezcla de los mismos.
- 15     **5.** La composición de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la composición se formula como una composición farmacéutica.
- 20     **6.** La composición de acuerdo con la reivindicación 5 diseñada o formulada para formulaciones para administración oral/peroral, bucal, sublingual, mucosal o tópica.
- 20     **7.** La composición de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la composición se formula como una composición nutracéutica o suplementaria nutracéutica.
- 25     **8.** La composición de acuerdo con la reivindicación 7, diseñada como una solución o suspensión ingerible, que comprende el ingrediente activo en forma disuelta o suspendida, o como una forma de administración sólida, como en forma de comprimidos, cápsulas, grageas, o añadida como un suplemento alimenticio a los productos alimenticios diarios.
- 30     **9.** El uso de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la preparación de un medicamento.
- 30     **10.** La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso como un medicamento.
- 35     **11.** El uso in vitro de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para activar macrófagos.

40

45

50

55

60

65

Fig. 1

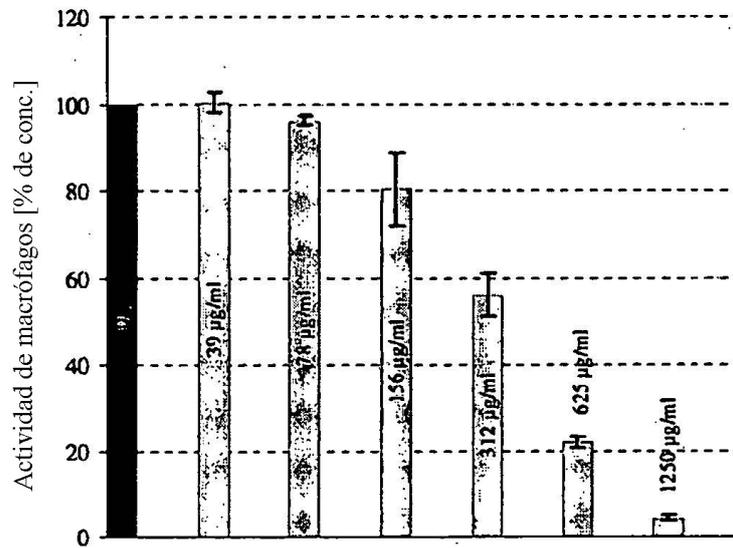


Fig. 2

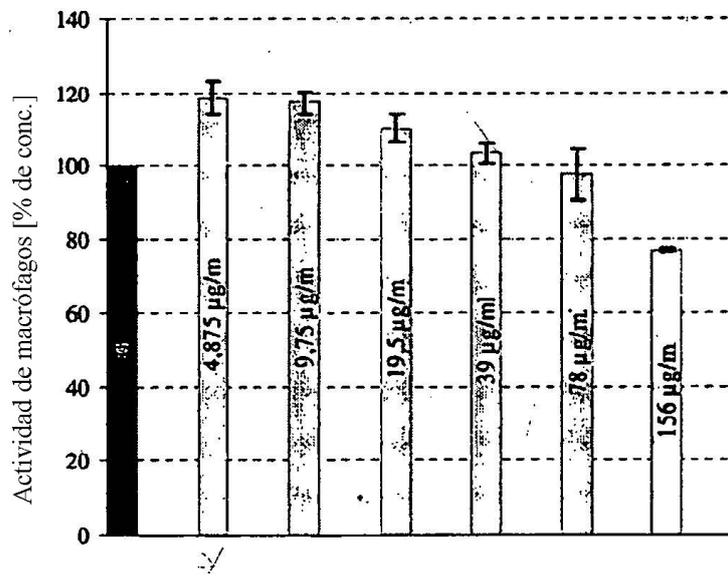


Fig. 3

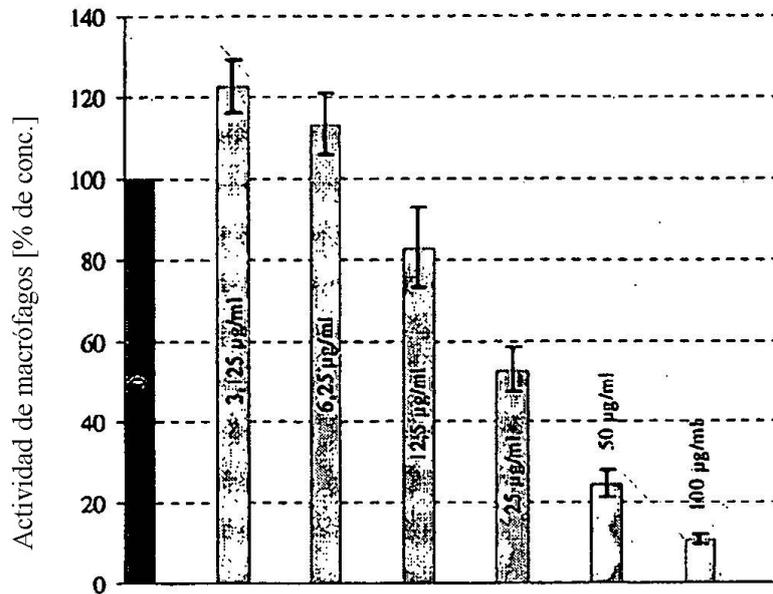


Fig. 4

