(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 720 205**

(51) Int. Cl.:

A61K 36/185 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2013 PCT/JP2013/083790**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014 WO14098092**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2013 E 13864487 (7)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019 EP 2937091**

(54) Título: **Extracto de bayas de maqui para uso en el tratamiento de xeroftalmía**

(30) Prioridad:

18.12.2012 JP 2012276210
28.03.2013 JP 2013069773

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.07.2019

(73) Titular/es:

ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD (50.0%)
1, Aza Numata Kitagata Kitagata-cho Ichinomiya-shi
Aichi 493-8001, JP y
KEIO UNIVERSITY (50.0%)

(72) Inventor/es:

TSUBOTA KAZUO;
NAKAMURA SHIGERU;
IMADA TOSHIHIRO;
TANAKA JUNJI;
KADEKARU TAKASHI;
SHIMODA HIROSHI y
MURAI HIROMICHI

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 720 205 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

Extracto de bayas de maqui para uso en el tratamiento de xeroftalmía

Campo técnico

Esta invención se refiere a composiciones que permiten aumentar la secreción lagrimal del ojo, específicamente para aumentar la cantidad de secreción lagrimal que ha disminuido por deterioro funcional debido a un excesivo uso de los ojos.

Antecedentes técnicos

El líquido lagrimal es una capa líquida delgada con un espesor de aproximadamente 7 μm que cubre la superficie más externa del globo ocular. El fluido lagrimal, de la capa superficial consiste en una estructura de tres capas de una capa de aceite, una capa de agua y una capa de mucina. Estas capas influyen entre sí, ajustando la estructura del líquido lagrimal. Cada capa de líquido lagrimal contiene diversos ingredientes, tales como proteínas incluidas lactoferrina, lisozima, IgA (inmunoglobulina A), IgG (inmunoglobulina G), albúmina o similares, cera, colesterol, glúcido, mucina o similares. La función del líquido lagrimal que contiene estos ingredientes es mantener la superficie ocular húmeda para evitar la infección de patógenos o similares que entran desde el exterior, también suministrar numerosas sustancias fisiológicas activas y suministrar oxígeno a tejidos avasculares como la córnea o similares.

Como tal, el líquido lagrimal tiene varias funciones. Sin embargo, si hay anomalías en la secreción lagrimal, lo que producen cambios en la cantidad o calidad de la secreción, dando como resultado un aumento en la cantidad de evaporación del líquido lagrimal o similar, el líquido lagrimal puede no funcionar bien. Dichas anomalías lagrimales aumentan los casos de xeroftalmía, como la gente sabe ahora.

Recientemente se han descrito varias causas de xeroftalmía. Una de las causas más notables es la visión excesiva de los terminales de visualización (VDT).

El reciente desarrollo de la tecnología de la información y su excelente infraestructura aumentan drásticamente la oportunidad de usar ordenadores en la vida diaria. Según la cifra estimada de Intel Corporation, se dice que hay aproximadamente un billón de ordenadores conectados a Internet en todo el mundo. Hoy en día, la mayoría de los oficinistas ven su trabajo en un VDT. Como los ordenadores se utilizan con frecuencia, cada vez más personas se quejan de fatiga ocular y de síntomas de xeroftalmía y de visión deficiente, posiblemente causados por el trabajo de VDT, que está empezando a convertirse en un problema como un problema de salud grave en los países industrializados avanzados. Se piensa que uno de los principales factores que causan los síntomas de xeroftalmía es que la visualización de los VDT disminuye la frecuencia de parpadeo en un cuarto en comparación con la frecuencia normal, aumentando de este modo la cantidad de evaporación del líquido lagrimal. Los inventores de esta invención también encontraron un nuevo factor en la causa de la xeroftalmía, a saber, que la visualización excesiva de VDT deteriora la función del líquido lagrimal, disminuyendo así la cantidad de secreción de líquido lagrimal.

Se sospecha que el uso excesivo de los ojos causa estrés oxidante. Un informe (documento no de patente 1) publicado en 2007 por Nakamura *et al.* dijo que el trastorno del epitelio corneal causado por la visualización de VDT es provocado por dicho estrés oxidante.

Para aliviar el malestar de la fatiga ocular, la xeroftalmía o similares en la actualidad, se sabe que es eficaz reemplazar el líquido lagrimal insuficiente colocando gotas de lágrimas artificiales en los ojos o cerrando el punto lagrimal o similares. Sin embargo, cada uno de estos remedios es solo temporal, de apoyo e insuficiente. Por lo tanto, en lugar de estos remedios, se requiere drásticamente una forma de reducir la xeroftalmía, una sensación de cuerpo extraño, malestar ocular, fatiga ocular o similar reemplazando la secreción lagrimal perdida o tener las composiciones efectivas para los remedios anteriores.

La xeroftalmía está relacionada con el radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal. Por lo tanto, para prevenir y curar la xeroftalmía, se requiere suprimir el radical de oxígeno que está expresamente dentro del tejido de la glándula lagrimal.

Documentos de la técnica anterior

Documentos no de patente

Documento no de patente 1: Investigative Ophthalmology & Visual Science, abril de 2007, vol. 48, nº 4, págs.1552-1558, "Involvement of Oxidative Stress on Corneal Epithelial Alteration in a Blink-suppressed Dry Eye"

Compendio de la invención

Problemas a resolver por la invención

En tal contexto, los inventores de esta invención aprendieron que el extracto de bayas de maqui reduce el deterioro de la secreción lagrimal y la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal. También

descubrieron que el glucósido delfinidina, que se encuentra en gran parte en el extracto de las bayas de maqui, asume un papel importante como sustancia fisiológicamente activa, lo que da como resultado la realización de esta invención. En otras palabras, el objetivo de esta invención es proporcionar un agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, con nuevos ingredientes, mediante el cual el extracto de bayas de maqui o el glucósido delfinidina reduce el deterioro de la capacidad secretora lagrimal para suprimir la generación del radical de oxígeno en la tejido de la glándula lagrimal.

Medios para resolver los problemas

Las características de la presente descripción para resolver los problemas mencionados anteriormente son las siguientes.

1. Agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, que contiene extracto de bayas de maqui como principio activo.

2. Agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, que contiene glucósido delfinidina como principio activo, extraído de las bayas de maqui.

3. Agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, que contiene delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-sambubiósido o delfinidin-3-glucósido como principio activo.

4. Agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, que contiene delfinidin-3,5-diglucósido como principio activo.

5. Agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, que contiene extracto de bayas de maqui que incluye delfinidin-3,5-diglucósido como principio activo.

6. Inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, que contiene extracto de bayas de maqui como principio activo.

7. Inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, que contiene glucósido delfinidina como principio activo, extraído de las bayas de maqui.

8. Inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, que contiene delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-sambubiósido o delfinidin-3-glucósido como principio activo.

9. Inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, que contiene el extracto de bayas de maqui, incluido el delfinidin-3,5-diglucósido como principio activo.

10. Inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene el extracto de bayas de maqui como principio activo.

11. Inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene glucósido delfinidina como principio activo, extraído de las bayas de maqui.

12. Inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene al menos uno o más delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-sambubiósido y delfinidin-3-glucósido como principio activo.

13. Inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene delfinidin-3,5-diglucósido como principio activo.

14. Inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene el extracto de bayas de maqui que incluye delfinidin-3,5-diglucósido como principio activo. La invención se define en las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es un gráfico que muestra los cambios en la capacidad de secreción lagrimal después de cuatro administraciones en días consecutivos de extracto de bayas de maqui a ratones que padecen xeroftalmía producida por estrés (indicado por el valor medido, promedio más o menos error típico, ** p <0.01 para el valor por defecto, #p <0.05 para el vehículo).

La Fig. 2 es un gráfico que muestra los cambios en la capacidad de secreción lagrimal después de cuatro administraciones en días consecutivos de extracto de bayas de maqui a ratones que padecen xeroftalmía producida por estrés (indicado por el valor de la variable en comparación con el valor antes de la administración, promedio más o menos error típico, ** p <0.01 para el valor por defecto, #p <0.05 para el vehículo).

La Fig. 3 es un gráfico que muestra los cambios en la capacidad de secreción lagrimal después de cuatro administraciones en días consecutivos de extracto de bayas de maqui a ratones que padecen xeroftalmía producida por estrés.

La Fig. 4 es un gráfico que muestra el efecto del extracto de bayas de maqui en la inhibición de la generación de la especie del radical de oxígeno en las células lagrimales.

La Fig. 5 es un gráfico que compara el efecto del extracto de bayas de maqui y otros extractos en la inhibición de la generación de la especie del radical de oxígeno en las células lagrimales.

La Fig. 6 es un gráfico que muestra el efecto del glucósido delfinidina, aislado del extracto de bayas de maqui, para inhibir la generación de la especie del radical de oxígeno.

La Fig. 7 es un gráfico de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) del extracto de bayas de maqui.

La Fig. 8 es un gráfico de HPLC del extracto de bayas de maqui Fr. 1: delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido.

La Fig. 9 es un gráfico de HPLC del extracto de bayas de maqui Fr. 2: delfinidin-3,5-glucósido.

La Fig. 10 es un gráfico de HPLC del extracto de bayas de maqui Fr. 5: delfinidin-3-sambubiósido.

La Fig. 11 es un gráfico de HPLC del extracto de bayas de maqui Fr. 6: delfinidin-3-glucósido.

La Fig. 12 es un gráfico que muestra el efecto comparativo de Fr. 2: delfinidin-3,5-glucósido (Ejemplo de trabajo 3), Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5) y delfinidin-3-rutinósido en la inhibición de la generación de la especie del radical de oxígeno en células lagrimales.

La Fig. 13 es un gráfico que muestra el efecto comparativo del Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5) y otras antocianinas (es decir, petunidin-3-glucósido, peonidin-3-glucósido, movidin-3-glucósido, cianidin-3-glucósido) en la inhibición de la generación de la especie del radical de oxígeno en células lagrimales.

La Fig. 14 es un gráfico que muestra la cantidad comparativa incorporada de antocianina (delfinidin-3,5-diglucósido; D3G5G, delfinidin-3-glucósido; D3G, delfinidin-3-rutinósido; D3R) a las células lagrimales.

Modos para llevar a cabo la invención

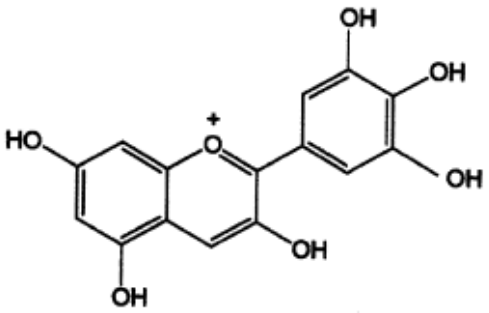
De aquí en adelante, la invención se describe con detalle.

Con respecto a esta invención, el agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, un inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal o un inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, contiene una principio activo que es extracto de bayas de maqui o glucósido delfinidina extraído de las bayas de maqui.

Además, el agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, un inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, contiene como principio activo uno o más delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-sambubiósido y delfinidin-3-glucósido.

La delfinidina mencionada anteriormente es un compuesto químico, descrito en la siguiente fórmula (1).

Fórmula química (1)

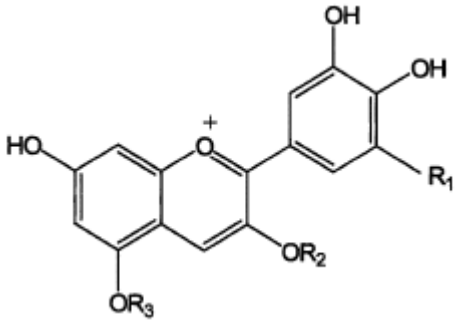


La delfinidina es un tipo de antocianidina y antioxidante que se conoce como un pigmento vegetal importante. Además, la antocianidina, como aglucón, está relacionada con el azúcar o una cadena de azúcar para formar antocianina (glucósido).

Aunque el método para obtener la delfinidina es ilimitado, es posible utilizar una sustancia vegetal o una sintetizada químicamente. Por supuesto, es posible utilizar una sustancia que esté disponible en el mercado (es decir, no por síntesis).

El glucósido delfinidina, como se emplea en esta invención, está descrito, por ejemplo, por la siguiente fórmula química (2).

Fórmula química (2)



(R_1 a R_3 se reemplazan por hidroxilo, monómero de azúcar (sacárido) o dímero).

Aunque el glucósido delfinidina al que se hizo referencia anteriormente no se limita a esa sustancia específica, por ejemplo, se limita preferiblemente a delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-sambubiósido y delfinidin-3-glucósido. Estos compuestos químicos son los que en las descripciones se reemplazan por R_1 a R_3 de los compuestos mostrados en la fórmula química 2 anterior. También es posible utilizar uno o más de uno.

Tabla 1

	R_1	R_2	R_3
Delfinidin-3-*O*-sambubiósido-5-*O*-glucósido	OH	Sam	Glu
Delfinidin-3,5-O-diglucósido	OH	Glu	Glu
Delfinidin-3-O-sambubiósido	OH	Sam	H
Delfinidin-3-O-glucósido	OH	Glu	H
Glu: glucosa, Sam: sambubiosa			

El método para obtener el glucósido delfinidina no está especialmente restringido. Es posible utilizar una sustancia vegetal o una sintetizada químicamente. En el caso de que el glucósido delfinidina se extraiga de una planta además de las bayas de maqui, es posible utilizar arándanos, grosella negra, arándanos rojos, Concord (uva), granada o similares como ingrediente. Sin embargo, se prefiere el extracto de maqui, ya que las bayas de maqui contienen una alta concentración de glucósido delfinidina que es el principio activo de esta invención, y se extrae fácilmente. También es posible utilizar una sustancia que esté disponible en el mercado.

Las bayas de maqui (también conocida como *Aristotelia chilensis*) es una planta de bayas nativa de la parte meridional de Chile en América del Sur. Se sabe que su acción antioxidante es sumamente fuerte.

También se sabe que las bayas de maqui contienen el glucósido delfinidina o delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido y delfinidin-3,5-O-diglucósido, sustancias que no están contenidas en otras bayas como el arándano y la grosella negra.

La investigación llevada a cabo por los inventores de esta invención confirmó que las bayas de maqui también contienen delfinidin-3-sambubiósido y delfinidin-3-glucósido, así como el delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido y delfinidin-3,5-diglucósido mencionado anteriormente del glucósido delfinidina. Delfinidin-3,5-diglucósido es especialmente un principio activo excelente y, por lo tanto, funciona eficazmente como agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, como inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, o como inhibidor de la generación del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal.

El contenido de glucósido delfinidina del extracto de bayas de maqui anterior no está especialmente restringido. Sin embargo, es preferible que cuando el extracto de bayas de maqui sea 100% en peso, entonces 6 a 25% en peso contenga delfinidin-3,5-O-diglucósido, preferiblemente 10 a 20% en peso, y que 1 a 10% en peso contenga delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido, preferiblemente 4-8% en peso.

De esta invención, ninguna parte concreta de la planta de las bayas de maqui está restringida a la extracción del glucósido delfinidina como principio activo. Se pueden utilizar los frutos, las semillas, las flores, las hojas, los tallos o similares. Sin embargo, es preferible el fruto, ya que es posible extraer una alta concentración del principio activo anterior del fruto.

Como disolvente de extracción, es posible usar un disolvente polar tal como agua, metanol, etanol, alcohol isopropílico, 1,3-butilenglicol, etilenglicol, propilenglicol, glicerina, acetato de etilo o similares. También es posible mezclar dos o más disolventes de entre los disolventes anteriores. Como disolvente de extracción se prefiere etanol acuoso o su mezcla, etanol hidratado, para extraer con eficacia el principio activo.

En caso de utilizar agua como disolvente de extracción, no está restringido el tipo de agua. Se puede usar agua del grifo, agua destilada, agua de iones alcalinos, aguas profundas o similares.

La cantidad de concentración de etanol no está especialmente restringida en el caso de que se use etanol hidratado como un disolvente de extracción. Sin embargo, la concentración de etanol debe ser de ~10 a 90% (peso/peso), preferiblemente de ~20 a 80% (peso/peso). La razón por la que la concentración de etanol es inferior al 90% (peso/peso), como anteriormente, es que una concentración demasiado alta de etanol hace que el contenido de aceite de las bayas de maqui se disuelva fácilmente en etanol hidratado.

La temperatura de extracción debe ser de 20 a 80 grados Celsius, preferiblemente de 40 a 50 grados Celsius. Si la temperatura de extracción es demasiado baja, el principio activo no se extrae fácilmente. Si es demasiado alta, el principio activo se degrada, por lo tanto, la actividad fisiológica (capacidad de funcionamiento con salud) disminuye.

Los métodos de extracción incluyen, por ejemplo, extracción continua, extracción por remojo, extracción a contracorriente, o uno que se puede usar con cualquier equipo opcional a temperatura ambiente o por calentamiento a reflujo.

En cuanto al método específico de extracción, coloque el ingrediente de extracción (es decir, las bayas de maqui o similar) en la cuba de tratamiento llena con un disolvente de extracción y agite hasta que el principio activo del ingrediente de extracción penetre en el disolvente. Si se usa etanol hidratado, por ejemplo, como disolvente de extracción, la extracción se realiza porque el disolvente es aproximadamente de 2 a 100 veces de peso como máximo que el ingrediente de extracción, de 30 minutos a dos horas. Una vez que el principio activo se ha filtrado en el disolvente, a continuación filtrar el disolvente y retirar el residuo para obtener el líquido extraído.

Posteriormente, según el método ordinario, aplique el método de dilución, concentración, refinado o secado o similar al líquido extraído para obtener el agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía o el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal.

El método de refinado se realiza absorbiendo el líquido extraído que se filtra a través de la resina de absorción sintética o la resina de filtración en gel o similar y luego eluyendo el líquido extraído en metanol, etanol o similar para concentrarlo.

El agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía o el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención puede usarse como ingrediente de cualquier alimento y bebida, como los dulces (chicle, golosinas, caramelos, chocolates, galletas, gelatinas, gominas, dulces en forma de comprimidos u otros refrigerios), fideos (fideos de alforfón japoneses llamados Soba, fideos de trigo japoneses llamados Udon, fideos chinos llamados Ramen o similares), productos lácteos (leche, helado, yogur o similares), condimentos (pasta de alubias fermentada llamada Miso, salsa de soya llamada Shoyu o similar), sopas, bebidas (zumos, café, té negro, té verde, bebidas carbonatadas, bebidas para deportistas o similares) y alimentos en general y alimentos saludables (tipo comprimido, tipo cápsula o similares), y complementos nutritivos (bebida de complementos nutritivos o similares).El agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía o el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención se puede aplicar a los alimentos y bebidas anteriores.

Según los tipos de alimentos y bebidas anteriores, se pueden agregar los siguientes ingredientes: glucosa, fructosa, sacarosa, maltosa, sorbitol, esteviósido, jarabe de maíz, lactosa, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido málico, ácido succínico, ácido láctico, L-ácido ascórbico, dl-α-tocoferol, eritorbato de sodio, glicerina, propilenglicol, éster de ácido graso de glicerina, éster de ácido graso de poliglicerol, éster de ácido graso de sacarosa, éster de ácido graso de sorbitán, éster de ácido graso de propilenglicol, goma arábica, carragenina, caseína, gelatina, pectina, agar-agar (gelatina hecha de algas), serie de vitamina B, amida de ácido nicotínico, pantotenato ácido de calcio, aminoácidos, sales de calcio, pigmentos, productos químicos aromáticos, conservantes o similares.

El método específico de extracción se describe en la presente memoria. En primer lugar, seque con atomizador o por congelación el agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía con celulosa en polvo para convertirlo en un polvo, gránulos, comprimidos o líquido para usar fácilmente con diferentes tipos de alimentos y bebidas (comidas listas para consumir o similares). Además, es posible disolver el agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, por ejemplo, en aceite y grasa, en etanol, en glicerina o en una mezcla de estas sustancias para usar dicho líquido para preparar alimentos o bebidas secos. Además, es posible convertir el extracto en un polvo o gránulo mezclándolo con un aglutinante como goma arábiga, dextrina o similares para agregar a alimentos o bebidas secos.

La cantidad total de principio activo del agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía o del inhibidor de deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención, que también se puede agregar a alimentos y bebidas, es preferiblemente de 1 a 20% en peso o menos, ya que el objetivo principal de esta invención es el mantenimiento de la salud.

El agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía o el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención se puede usar como materia prima para medicamentos (incluidos los fármacos y los productos parafarmacéuticos). En la fabricación de fármacos, el agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía de esta invención puede mezclarse adecuadamente con materias primas tales como, por ejemplo, vehículos (glucosa, sacarosa, azúcar blando blanco, cloruro de sodio, almidón, carbonato de calcio, caolín, celulosa cristalina, aceite de cacao, aceite vegetal hidrogenado, talco o similares), aglutinantes (agua destilada, solución salina normal, etanol en agua, solución etanólica, jarabe simple, dextrosa en agua, solución de almidón, solución de gelatina, carboximetilcelulosa, fosfato de potasio, polividona o similares), agentes disgregantes (alginato de sodio, agar-agar, bicarbonato de sodio, lauril sulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico, almidón, lactosa, goma arábiga en polvo, gelatina, etanol o similares), agentes supresores para disgregación (bases de amonio cuaternario, lauril sulfato de sodio o similares), absorbentes (glicerina, almidón, lactosa, caolín, bentonita, ácido silícico o similares) o agentes lubricantes (talco purificado, estearato, polietilenglicol o similares.

El agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía o el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención puede administrarse por vía oral en forma de comprimidos, píldoras, cápsulas blandas o duras, gránulos finos, polvos, gránulos, líquidos o similares. Sin embargo, el agente terapéutico también puede administrarse por vía parenteral en diferentes formas de solución o junto con un dispersante, un agente de suspensión, un estabilizante o similar mediante administración directa en el tejido local mediante inyección intradérmica, mediante inyección hipodérmica, mediante inyección intramuscular o mediante inyección intravenosa o similar. El agente terapéutico también se puede usar como supositorio o colirio.

La dosis aplicada se puede ajustar según el método de administración o al estado de la enfermedad o la edad del paciente o similar. Normalmente, los adultos pueden tomar aproximadamente de 0.5 a 5,000 mg de principio activo al día, mientras que los niños pueden tomar de 0.5 a 3,000 mg por día. La relación de composición del agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía el inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal de esta invención puede ajustarse según el modo de administración. Cuando la composición dietética se administra por vía oral o por vía mucosa, la dosis aplicada es preferiblemente de 0.3 a 15.0% en peso. Cuando la composición dietética se administra por vía parenteral, la dosis es preferiblemente de 0.01 a 10% en peso. La dosis varía dependiendo del estado del paciente, de modo que una dosis menor que la cantidad anterior puede ser suficiente, o a veces puede necesitarse una cantidad mayor.

Ejemplos de trabajo

En la presente memoria se describen ejemplos de esta invención, que verifican las acciones, efectos o similares del agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, del inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal y del inhibidor de la generación de radicales de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal.

Ejemplo de trabajo 1: Preparación del extracto de bayas de maqui

Las bayas de maqui (*Aristotelia chilensis*) en agua destilada se agitaron a 50 grados Celsius para obtener el extracto líquido. Después de eso, el líquido se filtró y se pasó a través de una cromatografía en columna absorbente de material sintético, y luego el líquido del extracto de bayas de maqui que contenía el principio activo se eluyó en una solución acuosa de etanol al 80%. Luego, el líquido del extracto de bayas de maqui se secó en el extracto de bayas de maqui (Ejemplo de trabajo 1). Al analizar el extracto de bayas de maqui del ejemplo de trabajo 1 por HPLC, se identificó que el extracto contenía 3,5-diglucósido de delfinidina al 12,26% y 3-sambubiósido-5-glucósido de delfinidina al 7,76%.

Ejemplos de trabajo 2 a 5: Aislamiento de los ingredientes relacionados del extracto de bayas de maqui

En el pasado, se identificó que el extracto de bayas de maqui mostraba acción curativa en modelos de ratones con xeroftalmía. Para encontrar el principio activo del extracto, se aisló antocianina de las bayas de maqui y se refinó.

En cuanto al método de aislamiento y refinado, el extracto de bayas de maqui (0,25 g/5 ml) obtenido por la preparación descrita en el ejemplo de trabajo 1 se filtró a través de un tapón de algodón y luego se pasó a través de un ODS Sep-Pak (Waters Corporation). Luego, el extracto se aisló y se refinó por HPLC para la toma de muestras. La condición es la siguiente.

Fase móvil: MeOH al 25%, TFA al 0.3%

UV: 520 nm

Caudal: 9,0 ml/min

Columna: Inertsil PREP-ODS 20 × 250 mm

En el aislamiento y refinado del extracto de bayas de maqui se confirmaron los siguientes hechos.

Se aislaron 6,3 mg de delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido (Fr. 1: Ejemplo de trabajo 2)

Se aislaron 6,3 mg de delfinidin-3,5-diglucósido (Fr. 2: Ejemplo de trabajo 3)

Se aislaron 2,5 mg de delfinidin-3-sambubiósido (Fr.5: Ejemplo de trabajo 4)

Se aislaron 4,8 mg de delfinidin-3-glucósido (Fr. 6: Ejemplo de trabajo 5)

Cada ejemplo tiene 95% de pureza o más.

Los resultados de la prueba de HPLC se muestran en las figuras 7 a 11.

Ejemplo de prueba 1: Evaluación de la acción inhibidora del deterioro de la capacidad secretora lagrimal en ratones con síntomas de xeroftalmía

Condición de la prueba

Con respecto al extracto de bayas de maqui (Ejemplo de trabajo 1), la evaluación de la acción inhibidora del deterioro de la capacidad secretora lagrimal en ratones con síntomas de xeroftalmía producida por estrés se realizó según las etapas siguientes.

Como animal de ensayo, se utilizaron ratones hembra C57/B de 10 semanas de edad. Había de 5 a 10 ratones por grupo.

El procedimiento para deteriorar la capacidad de secreción lagrimal (prueba de carga por estrés) se realizó según el documento de: (Tracy L. Bale, Angelo Contarino, George W. Smith, Raymond Chan, Lisa H. Gold, Paul E. Sawchenko: Mice deficient of corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behavior and are hypersensitive to stress. *Nature Genetics*. 24: 410-414, 2000). En otras palabras, los ratones se mantuvieron en tubos de centrifugadora de polipropileno (capacidad de contenido: aprox. 60 ml) durante cuatro horas al día, y tenían espacio para respirar y evacuar. Durante el tiempo en que los ratones estuvieron restringidos en el tubo, se sopló viento en las caras de los ratones a una velocidad de 0.5 a 1.0 m/s. Durante el período fuera de operación en las cuatro horas, los ratones podían comer y beber agua en la jaula. El procedimiento anterior se repitió durante el periodo de administración del extracto de bayas de maqui.

El extracto de bayas de maqui (Ejemplo de trabajo 1), eluido apropiadamente en agua destilada, se administró a los ratones mediante una sonda oral en las condiciones siguientes.

Cantidad de contenido: 4 mg/kg, 20 mg/kg

Solución de referencia: agua destilada (vehículo)

Número de pruebas: una vez al día durante cuatro u ocho días consecutivos

Las condiciones de restricción son las siguientes:

Temperatura: 23 ± 5°C.

Humedad: 70 ± 15%.

Horario de iluminación: De 8:00 a 20:00. Horario límite: De 20:00 a 8:00.

Alimentos y agua: Alimentos sólidos y agua del grifo, tomados a discreción.

La cantidad de secreción lagrimal se midió de la siguiente manera.

Se insertó hilo de algodón ("ZONE-QUICK" de Showa Yakuhin Kakou Co., Ltd.) en el canto externo derecho e izquierdo de los ratones durante 15 segundos. La longitud de la decoloración marrón en el hilo de algodón que fue penetrado por el líquido lagrimal se midió con una precisión de 0.5 mm. Las mediciones se tomaron antes del período de carga de tensión (valor por defecto) de la administración, nuevamente al día siguiente durante el período de carga por estrés, y de nuevo antes del período de carga por estrés. El valor promedio de ambos ojos de los ratones debe ser la cantidad de secreción lagrimal de cada ratón.

El análisis estadístico se realizó según el método siguiente. Se realizó una prueba de la t para datos emparejados para comparar el valor por defecto con el valor el cuarto día de administración. Se realizaron muchas pruebas de la t para datos no emparejados o pruebas de Dunnett para comparar los grupos.

Resultado y efecto del ejemplo de prueba 1

(A) Resultado de la administración repetida cuatro días (Fig. 1 o Fig. 2)

La Fig. 1 muestra el resultado en los cambios (valor medido) de la capacidad secretora lagrimal después de administrar el extracto de bayas de maqui a los ratones con síntomas de xeroftalmía producida por estrés. La cantidad de líquido lagrimal muestra una tendencia decreciente en el grupo administrado con extracto de bayas de maqui y en el grupo administrado con vehículo.

Especialmente en el grupo administrado con vehículo, los valores el primea día de administración y el cuarto día disminuyeron significativamente, en comparación con el valor por defecto.

La Fig. 2 muestra el cambio en la proporción en comparación con el valor antes de la administración (valor por defecto). Como se muestra en la Fig. 2, el cambio en la proporción del cuarto día de administración en comparación con el valor por defecto muestra un cambio significativamente pequeño en el grupo administrado con 20 mg/kg de extracto de bayas de maqui en comparación con el grupo administrado con vehículo. Por lo tanto, se comprobó que el extracto de bayas de maqui de este ejemplo tiene la acción de inhibir el deterioro de la capacidad secretora lagrimal, lo que lo hace eficaz como agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía.

(B) Resultado de la administración repetida ocho días (Fig. 3)

La Fig. 3 muestra el resultado en los cambios (valor medido) de la capacidad secretora lagrimal después de administrar el extracto de bayas de maqui a los ratones que tienen síntomas de xeroftalmía producida por estrés. Como se muestra en la Fig. 3, la cantidad de secreción lagrimal del grupo administrado con 20 mg/kg de extracto de bayas de maqui fue significativamente mayor que la del grupo administrado con vehículo.

Por lo tanto, se comprobó que el extracto de bayas de maqui de este ejemplo tiene la acción de inhibir el deterioro de la capacidad secretora lagrimal, lo que lo hace eficaz como agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía.

Ejemplo de prueba 2: Evaluación 1 sobre la acción inhibidora del extracto de bayas de maqui en especies del radical de oxígeno, utilizando glándulas lagrimales aisladas de ratones

(2-1) Condición de la prueba

Se evaluó la acción del extracto de bayas de maqui para especies del radical de oxígeno en el tejido de las glándulas lagrimales utilizando el modelo de ratones *in vivo*.

El extracto de bayas de maqui (Ejemplo de trabajo 1), eluido apropiadamente en agua destilada, se administró a los ratones mediante una sonda oral en las siguientes condiciones.

Animal: C57BL/6, hembra, 10 semanas de edad

Cantidad de contenido: 4 mg/kg, 20 mg/kg

Solución de referencia: Agua destilada (vehículo)

Número de pruebas: Una vez al día durante ocho días consecutivos

Número de muestras: 5 a 10 ratones por grupo.

Las condiciones de restricción de los ratones fueron las siguientes:

Temperatura: 23 ± 5°C.

Humedad: 70 ± 15%.

Horario de iluminación: De 8:00 a 20:00. Horario límite: De 20:00 a 8:00.

Alimentos y agua: Alimentos sólidos y agua del grifo, tomados a discreción.

La evaluación de la acción inhibidora de las especies del radical de oxígeno se realizó de la siguiente manera.

Se colocó una glándula lagrimal aislada en un tubo de ensayo y se agregaron 25 mg de tejido/ml de solución salina tamponada con fosfato frío (PBS). Después de eso, se agregaron perlas de óxido de circonio a la glándula lagrimal que se va a triturar con un molinillo de bolas. Después, se dispensaron 50 µl de cada suspensión celular. Luego, se añadió el extracto de bayas de maqui del Ejemplo de trabajo 1 (1, 10 µg/ml) a la suspensión celular, y a continuación se añadió la solución de DCFH-DA como la serie del radical de oxígeno para obtener el nivel final de concentración a 75 µm. Luego, después de 60 minutos de incubación a 37 grados centígrados, las células se lavaron en PBS. El lector de placas de fluorescencia midió la intensidad de la fluorescencia a (λ485/528).

Como ejemplo comparativo, la misma prueba se realizó en 10 µg/ml de luteína (comparación y contraste). La Fig. 4 muestra los resultados.

Además, como ejemplo comparativo, se realizó la misma prueba en el extracto de arándanos (Indena) y en el extracto de grosella negra (Tama Biochemical Co., Ltd.). La Fig. 5 muestra los resultados.

Además, se realizaron las mismas pruebas en los ejemplos siguientes.

Fr. 1: delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido (Ejemplo de trabajo 2)

Fr. 2: delfinidin-3,5-glucósido (Ejemplo de trabajo 3)

Fr. 5: delfinidin-3-sambubiósido (Ejemplo de trabajo 4)

Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5)

La Fig. 6 muestra los resultados.

(2-2) Resultado y efectos del ejemplo de prueba 2

Como se muestra en la Fig. 4, el extracto de bayas de maqui (10 µg/ml) inhibió significativamente la serie del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal. Se comprobó que, en comparación con la luteína que es conocida por su acción antioxidante para prevenir eficazmente la oftalmopatía, el extracto de bayas de maqui tiene un efecto excelente en la inhibición del radical de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal.

Como se muestra en la Fig. 5, en comparación con el extracto de arándanos y el extracto de grosella negra, el extracto de bayas de maqui inhibió significativamente el radical de oxígeno. Por lo tanto, se comprobó que el extracto de bayas de maqui es eficaz como agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía y tiene un excelente efecto como agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía en comparación con otros ingredientes. En la Fig. 5, “1” y “3” y “10” muestran la cantidad de aditivo en µg/ml de cada extracto botánico, y “bayas de maqui” es el extracto de bayas de maqui del Ejemplo de trabajo 1.

Como se muestra en la Fig. 6, el radical de oxígeno se inhibió significativamente en Fr. 1: delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido (Ejemplo de trabajo 2), Fr. 2: delfinidin-3,5-glucósido (Ejemplo de trabajo 3), Fr. 5: delfinidin-3-sambubiósido (Ejemplo de trabajo 4) y Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5). Por lo tanto, se comprobó que las sustancias anteriores contenidas en el extracto de maqui están involucradas en la prevención y el tratamiento eficaz de la xeroftalmía.

Ejemplo de prueba 3: Evaluación 2 de la acción inhibidora contra las especies del radical de oxígeno del extracto de bayas de maqui utilizando glándulas lagrimales aisladas de ratones

(3-1) Condición de la prueba

Respecto al Fr. 2: Delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3), Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5) y delfinidin-3-rutinósido (Ejemplo comparativo 1: sustancia contenida en la grosella negra), se realizó la misma evaluación que en el Ejemplo de prueba 2. La Fig. 12 muestra los resultados.

Respecto al Fr. 6 delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5) y las otras series de antocianinas (petunidin-3-glucósido, peonidin-3-glucósido, malvidin-3-glucósido y cianidin-3-glucósido), se hizo la evaluación del Ejemplo de prueba 2. La Fig. 13 muestra los resultados.

(3-2) Resultado de la prueba y efecto del ejemplo de trabajo del ejemplo de prueba 3

Como se muestra en la Fig. 12, la delfinidin-3-rutinosida (Ejemplo comparativo 1) no inhibió el radical de oxígeno. En cambio, Fr. 2: delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3) y Fr. 6: delfinidin-3-glucósido (Ejemplo de trabajo 5) inhibieron el radical de oxígeno, especialmente Fr. 2: delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3), que es la sustancia concreta de las bayas de maqui que muestra una excelente acción inhibidora contra la especie del radical de oxígeno.

Por lo tanto, en comparación con otros glucósidos de delfinidina, se comprobó que Fr. 2: delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3), que es la sustancia concreta de las bayas de maqui, previene y trata de manera excelente y eficaz la xeroftalmía.

Además, como se muestra en la Fig. 13, en comparación con otras antocianinas, Fr. 2: delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3), que es la sustancia concreta de las bayas de maqui, mostró una acción especialmente excelente para inhibir el radical de oxígeno en las células lagrimales.

Ejemplo de prueba 4: Prueba de absorción, relativa a las células lagrimales, sobre la sustancia contenida en el extracto de bayas de maqui

(4-1) Objetivo de la prueba.

El ejemplo de prueba 1 identificó que el extracto de bayas de maqui inhibe eficazmente la xeroftalmía y obviamente tiene una acción inhibidora más fuerte que la del arándano y la grosella negra. Además, con respecto a la sustancia, el delfinidin-3,5-diglucósido (Ejemplo de trabajo 3), que es la antocianina concreta de las bayas de maqui, mostró una acción inhibidora más fuerte que la de otras antocianinas, es decir, del delfinidin-3-glucósido (la antocianina principal contenida en los arándanos) y de la delfinidin-3-rutinosida (la antocianina principal contenida en la grosella negra: Ejemplo comparativo 1). Esta prueba se realizó para comparar la cantidad de consumo de antocianina en las células lagrimales utilizando la HPLC para identificar el mecanismo de las acciones. Esta prueba se realizó para comparar la cantidad de absorción de antocianina por las células lagrimales, utilizando HPLC para identificar el mecanismo de las acciones.

(4-2) Condición de la prueba

La prueba se realizó de la siguiente manera. Cada antocianina (de delfinidin-3,5-diglucósido, delfinidin-3-O-glucósido y delfinidin-3-O-rutinosida) se añadió a la suspensión de células lagrimales a la concentración final de 100 μM.

Después de lo cual, la suspensión se incubó durante 30 minutos a 37 grados centígrados. Luego, las células se lavaron y se volvieron a poner en suspensión en el amortiguador. De este modo, se analizó por HPLC la cantidad de antocianina. El análisis es el siguiente.

Flujo de análisis:

50 μl de suspensión celular

↓

Agregar 50 μl (0,2% TFA-40% MeOH)

↓

Filtrar con filtro de jeringa

↓

Análisis de HPLC

La condición de HPLC es la siguiente:

Columna: YMC UltraHT Pro C18 día. 2,0 × 100 mm

Temperatura de la columna: 30 grados centígrados.

Eluyente: A = 0,3% de solución acuosa de TFA, B = acetonitrilo

Gradiente: 5% B (0 min) − 5% B (0,60 min) − 13% B (0,61 min) − 15% B (3,00 min) − 26% B (6,00 min) − 90% B (6,20 min) - 90% B (7,20 min) − 5% B (7,40 min) − 5% B (9,50 min)

Caudal: 0,3 ml/min, volumen de inyección: 50 μl

Límite cuantitativo: 2 ng/ml (cianidin-3-O-glucósido)

Documentos de referencia: *Exp. Eye Res.*, 83, 348 (2006)

J. Agric. Food Chem, 49 1546 (2001)

(4-3) Resultado de la prueba y efecto del ejemplo de trabajo del ejemplo de prueba 4

La Fig. 14 muestra el resultado de la prueba de absorción en relación con las células lagrimales del principio activo contenido en el extracto de bayas de maqui.

Como resultado de la comparación de la cantidad de absorción de cada antocianina (Media ± E.T., n = 6, delfinidin-3,5-diglucósido; D3G5G, delfinidin-3-glucósido; D3G, delfinidin-3-rutinósido; D3R) en las células lagrimales, obviamente, la delfinidin-3,5-diglucósido (D3G5G) como sustancia concreta de las bayas de maqui fue absorbida por las células lagrimales más que la delfinidin-3-glucósido (D3G; sustancia contenida en los arándanos) y la delfinidin-3-rutinósido (D3R: sustancia contenido en la grosella negra), comprobando así que el extracto de bayas de maqui es fácilmente absorbido por las células lagrimales y almacenado allí, demostrando así que es más efectivo contra la xeroftalmía que las demás sustancias de antocianina.

Los siguientes cuadros muestran ejemplos de los compuestos para el agente profiláctico y terapéutico para la

xeroftalmía de esta invención. Sin embargo, los compuestos que se muestran a continuación no se limitan a estos ejemplos.

Ejemplo de mezcla 1: Chicles

Azúcar	53,0% en peso
Base de goma	20,0
Glucosa	10,0
Jarabe de almidón	16,0
Aroma químico	0,5
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	0,5
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 2: Gominolas

Reducción de azúcar	40,0% en peso
Azúcar granulada	20,0
Glucosa	20,0
Gelatina	4,7
Agua	9,68
Jugo Yuzu (Citrus Junos)	4,0
Aroma Yuzu	0,6
Pigmento	0,02
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	1,0
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 3: Golosinas

Azúcar	50,0% en peso
Jarabe de almidón	33,0
Agua	14,4
Ácido orgánico	2,0
Aroma químico	0,2
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	0,4
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 4: Yogur (tipo duro/tipo suave)

Leche	41,5% en peso
Leche desnatada en polvo	5,8
Azúcar	8,0
Agar-agar	0,15
Gelatina	0,1
Bacteria del ácido láctico	0,005
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	0,4
Aroma químico	Pequeña cantidad
Agua	Resto
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 5: Bebidas sin alcohol

Solución de glucosa fructosa	30,0% en peso
Agente emulsionante	0,5
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	0,3
Aroma químico	Cantidad apropiada
Agua destilada	Resto
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 6: Dulces en forma de comprimido

Azúcar	76,4% en peso
Glucosa	19,0
Éster de ácido graso y glicerina	0,2
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	0,5
Agua destilada	3,9
100,0% en peso	

Ejemplo de mezcla 7: Cápsulas blandas

Aceite de germen de arroz integral	47,0% en peso
Aceite de semilla de Yuzu (*Citrus junos*)	40,0
Agente emulsionante	12,0
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	1,0
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 8: Pastillas

Lactosa	54,0% en peso
Celulosa cristalina	30,0
Producto de la división de almidón	10,0
Éster de ácido graso de glicerina	5,0
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	1,0
	100,0% en peso

Ejemplo de mezcla 9: Colirio

Fumarato de cetotifeno	0.7% en peso
Sulfonato de sodio azuleno	0,2
Cromoglicato de sodio	9,8
L-aspartato de potasio	8,5
Alantoína	3,0
Hidrocloruro de tetrahidrozolina	0,5
Metilsulfato de neostigmina	0,05
Cloruro de benzalconio	0,1
Glicerina	25,0
Agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía	1,0
Ajustador de pH	Cantidad apropiada

Agua destilada	Resto
	100.0% en peso

Aplicación industrial

Como se describió anteriormente, esta invención permite proporcionar un agente profiláctico y terapéutico para la xeroftalmía, y un inhibidor del deterioro de la capacidad secretora lagrimal, y un inhibidor de la generación de radicales de oxígeno en el tejido de la glándula lagrimal, que contiene nuevos ingredientes derivados de las bayas de maqui, que es un alimento seguro.

REIVINDICACIONES

1. Agente profiláctico y terapéutico para su utilización en el tratamiento de xeroftalmía, que comprende extracto de bayas de maqui que contiene delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido en una cantidad de 6 a 25% y 1 a 10%, respectivamente, del extracto de bayas de maqui.

2. Composición que comprende extracto de bayas de maqui, para su utilización en inhibir el deterioro de la capacidad secretora lagrimal, en donde el extracto de bayas de maqui contiene delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido en una cantidad de 6 a 25% y 1 a 10%, respectivamente, del extracto de bayas de maqui.

3. Composición que comprende extracto de bayas de maqui, para su utilización en inhibir la generación de radicales de oxígeno en el tejido de la glándula, en donde el extracto de bayas de maqui contiene delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido como principios activos en una cantidad de 6 a 25% y 1 a 10%, respectivamente, del extracto de bayas de maqui.

4. El agente de la reivindicación 1 o la composición de las reivindicaciones 2 o 3, en donde el agente o la composición se administra 0,5 a 5,000 mg de delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido al día para adultos y 0,5 a 3,000 mg de delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido al día para niños.

5. Un método para fabricar el agente profiláctico y terapéutico de la reivindicación 1, que comprende la etapa (a) para obtener el extracto líquido de bayas de maqui al agitar las bayas de maqui en agua destilada a 50 grados centígrados, (b) para filtrar el líquido obtenido en la anterior etapa (a) y pasarlo a través de una columna de cromatografía absorbente sintética, (c) para eluir el extracto líquido de bayas de maqui que contiene delfinidin-3,5-diglucósido y delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido en una solución acuosa de 80% de etanol y secar el extracto líquido de bayas de maqui en extracto de bayas de maqui, y (d) preparar el agente profiláctico y terapéutico para xeroftalmía a partir del extracto de bayas de maqui obtenido en la anterior etapa (c).

FIG. 1

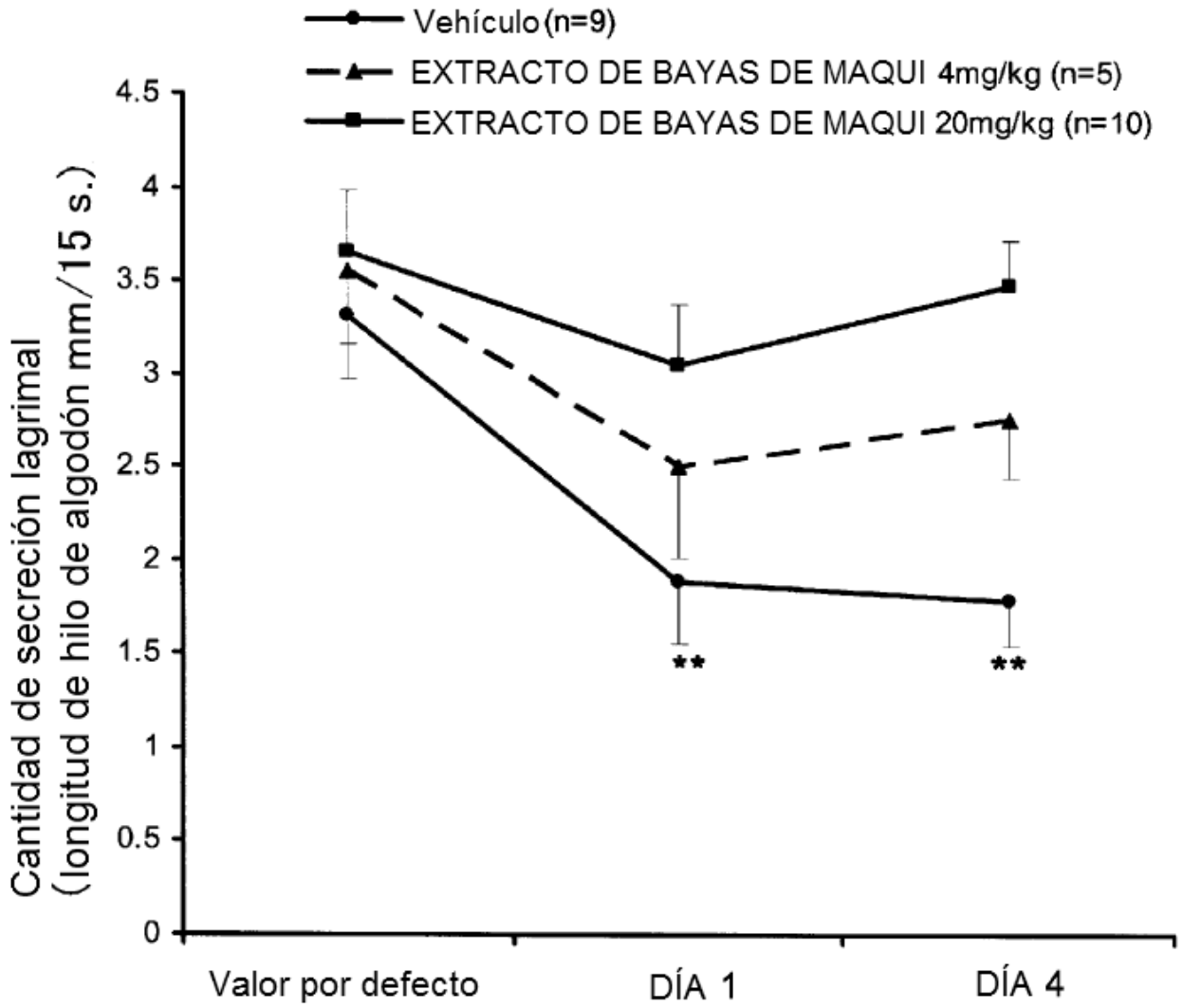

Vehículo (n=9)
EXTRACTO DE BAYAS DE MAQUI 4mg/kg (n=5)
EXTRACTO DE BAYAS DE MAQUI 20mg/kg (n=10)
Cantidad de secreción lagrimal
(longitud de hilo de algodón mm/15 s.)
4.5
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
**
**
Valor por defecto
DÍA 1
DÍA 4

FIG. 2

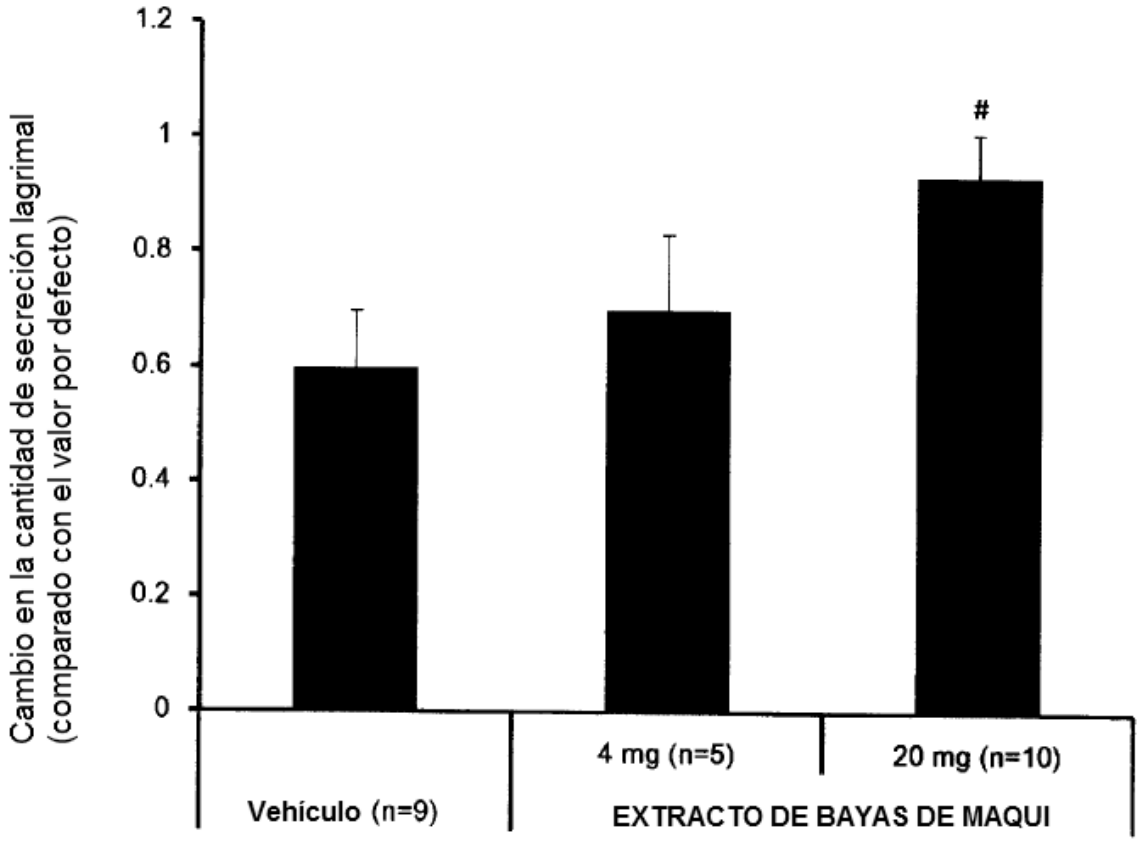

Cambio en la cantidad de secreción lagrimal
(comparado con el valor por defecto)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
#
Vehículo (n=9)
4 mg (n=5)
20 mg (n=10)
EXTRACTO DE BAYAS DE MAQUI

FIG. 3

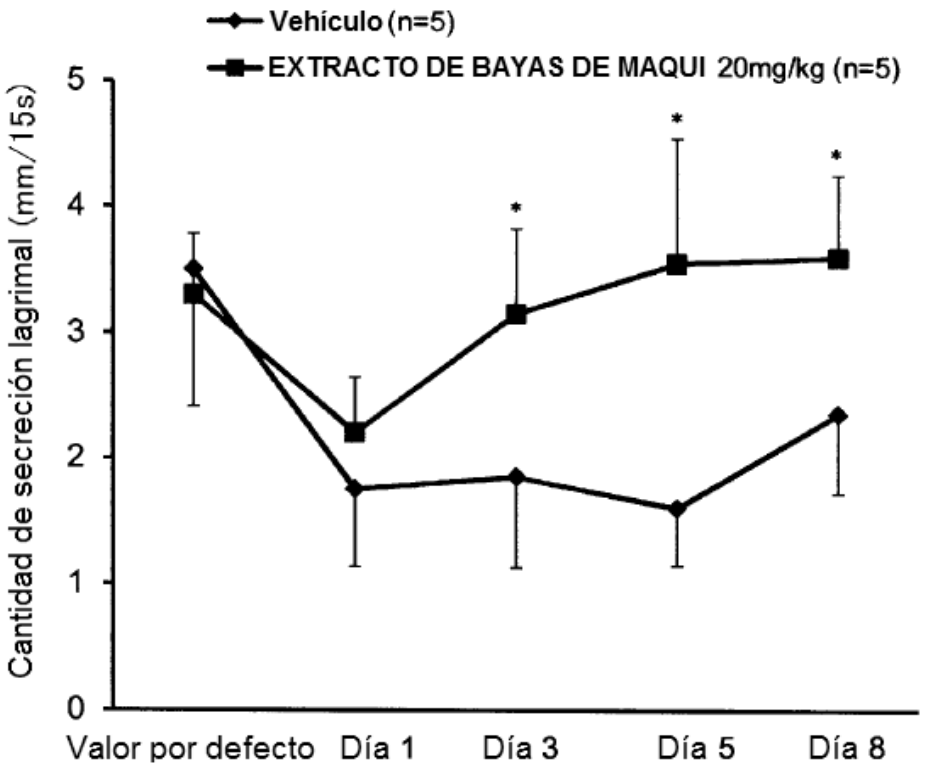
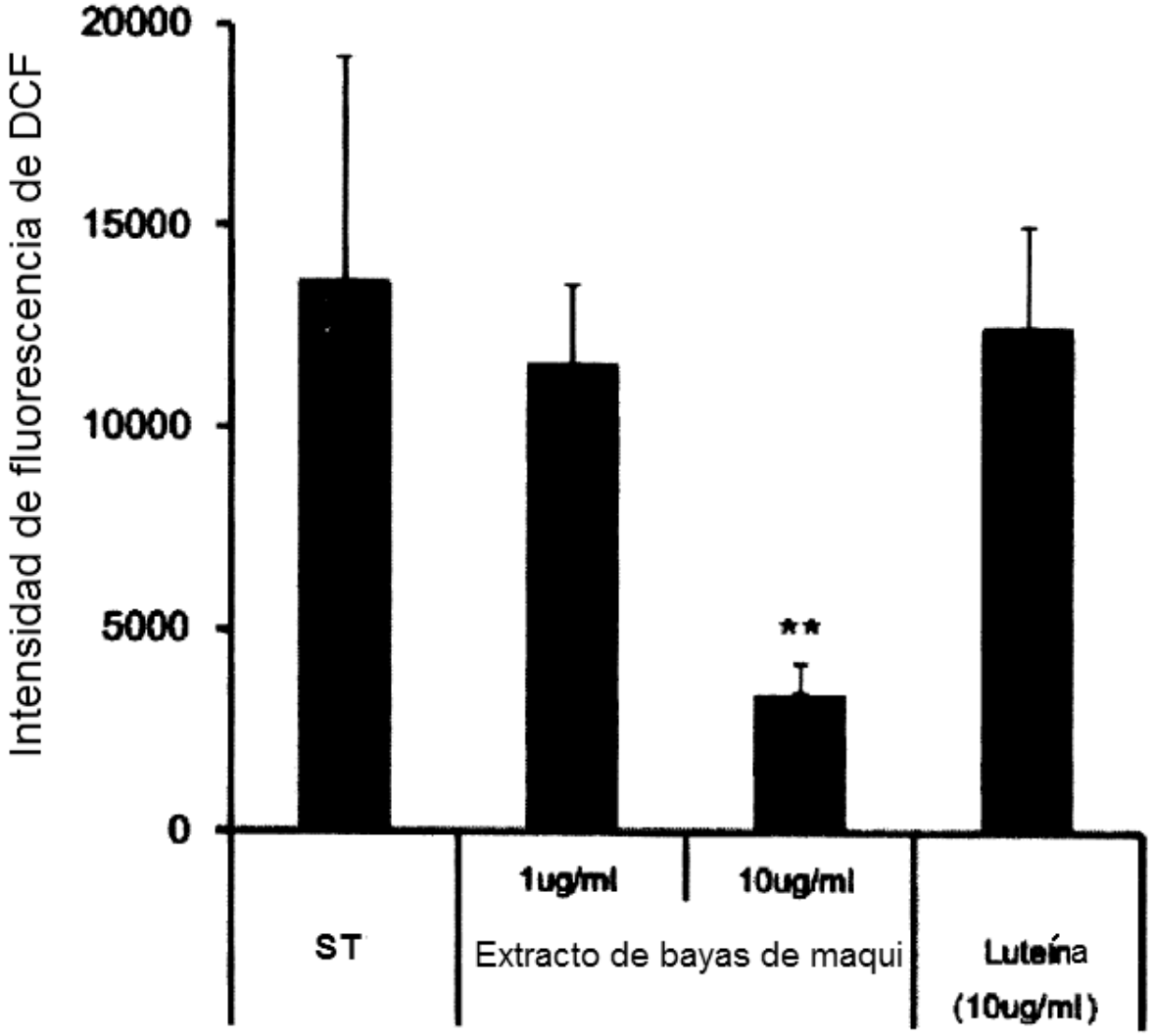

Vehículo (n=5)
EXTRACTO DE BAYAS DE MAQUI 20mg/kg (n=5)
Cantidad de secreción lagrimal (mm/15s)
5
4
3
2
1
0
*
*
*
Valor por defecto
Día 1
Día 3
Día 5
Día 8

FIG. 4



Media ± DT, ** $P < 0.01$ frente a sin tratamiento (ST)

FIG. 5

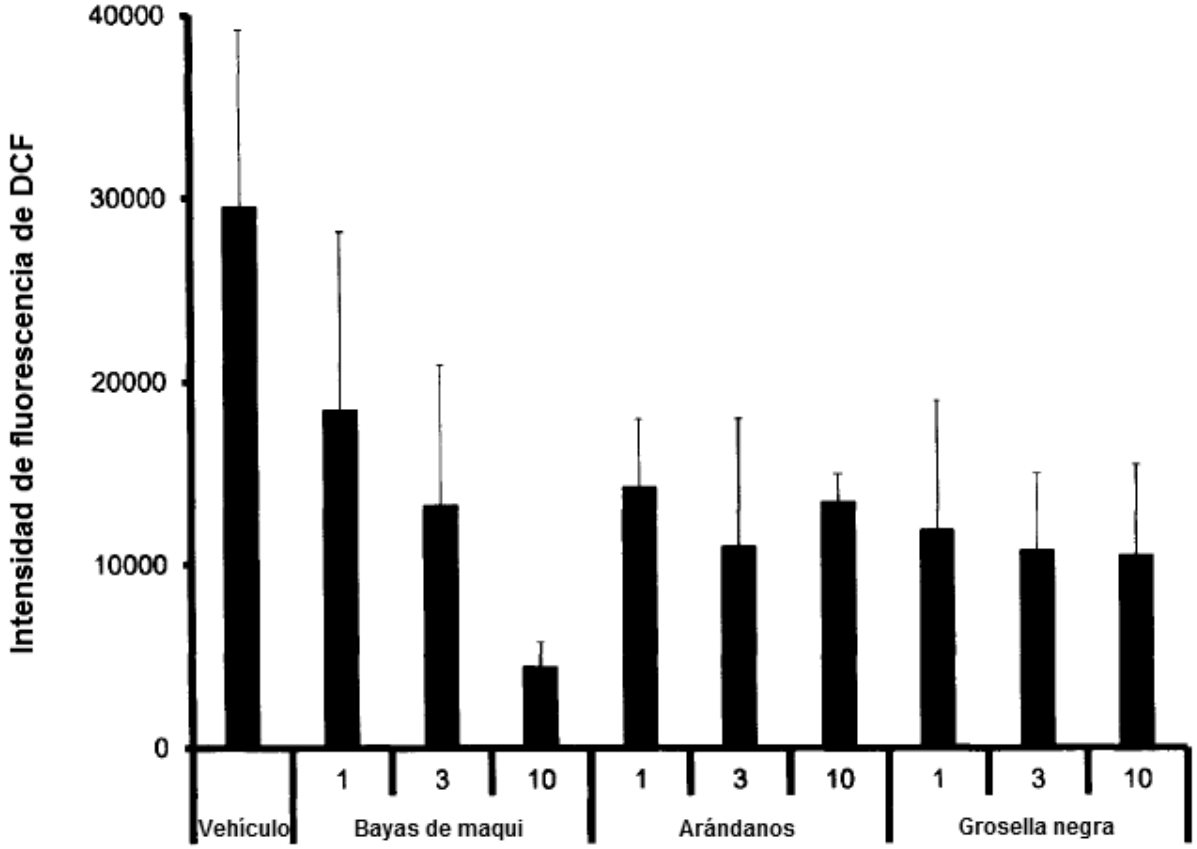

Intensidad de fluorescencia de DCF
40000
30000
20000
10000
0
1
3
10
1
3
10
1
3
10
Vehículo
Bayas de maqui
Arándanos
Grosella negra

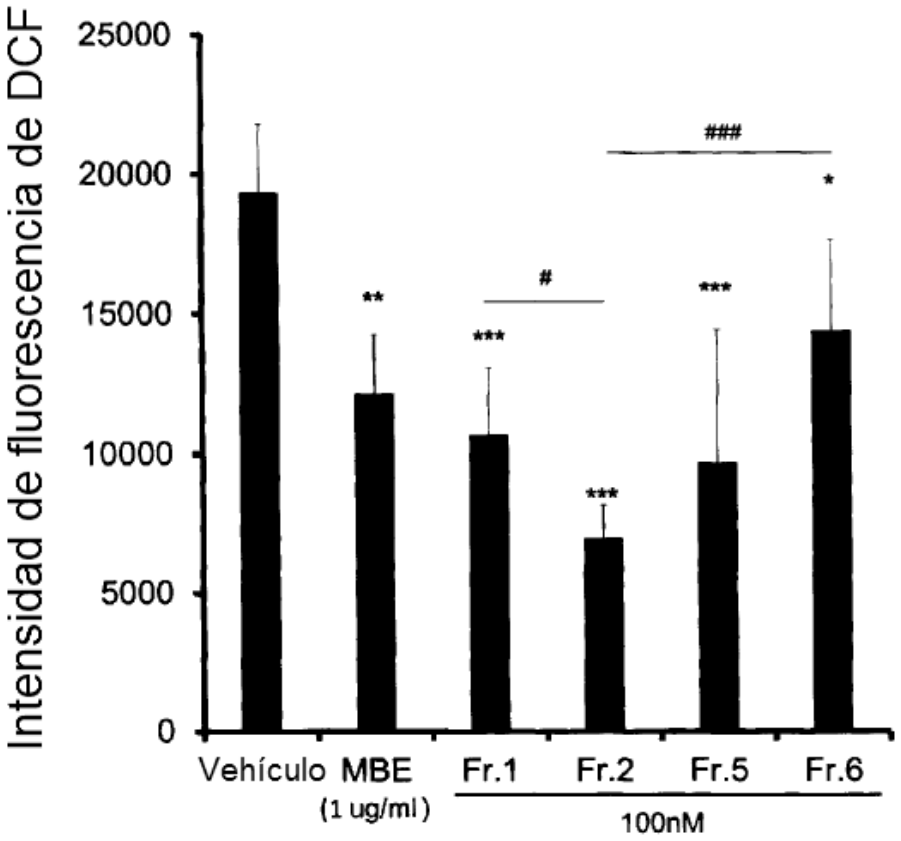
FIG. 6

Fr.1 Delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido

Fr.2 Delfinidin-3,5-diglucósido

Fr.5 Delfinidin-3-sambubiósido

Fr.6 Delfinidin-3-glucósido



* frente a vehículo

FIG. 7

Gráfico de HPLC de extracto de bayas de maqui (Fr. 1, 2, 5, 6)

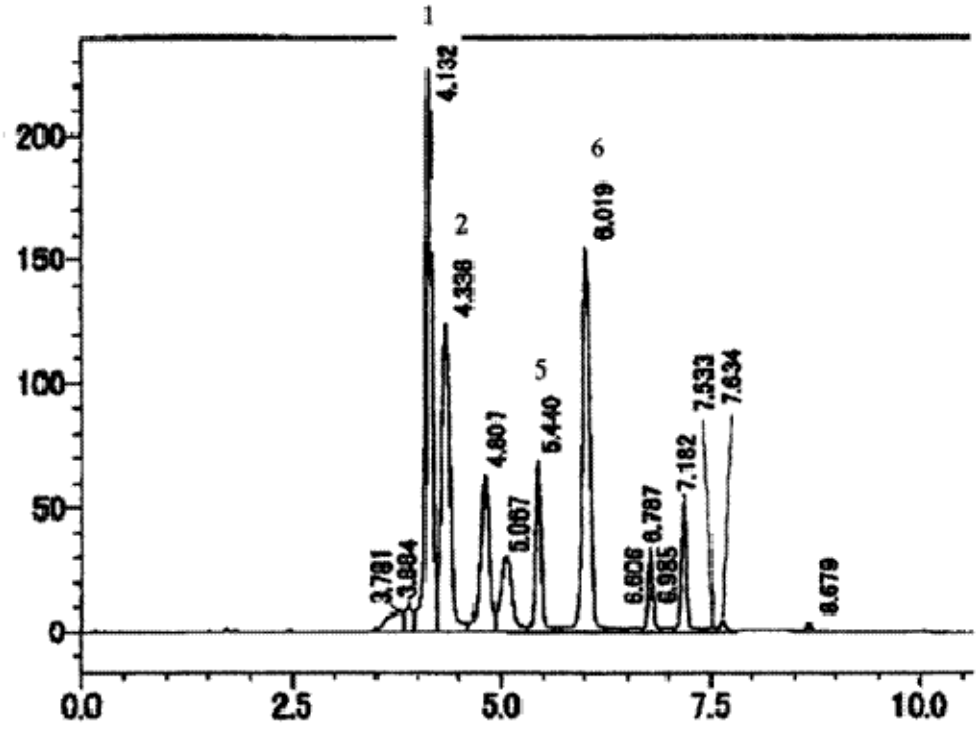


FIG. 8

Fr. 1: Delfinidin-3-sambubiósido-5-glucósido

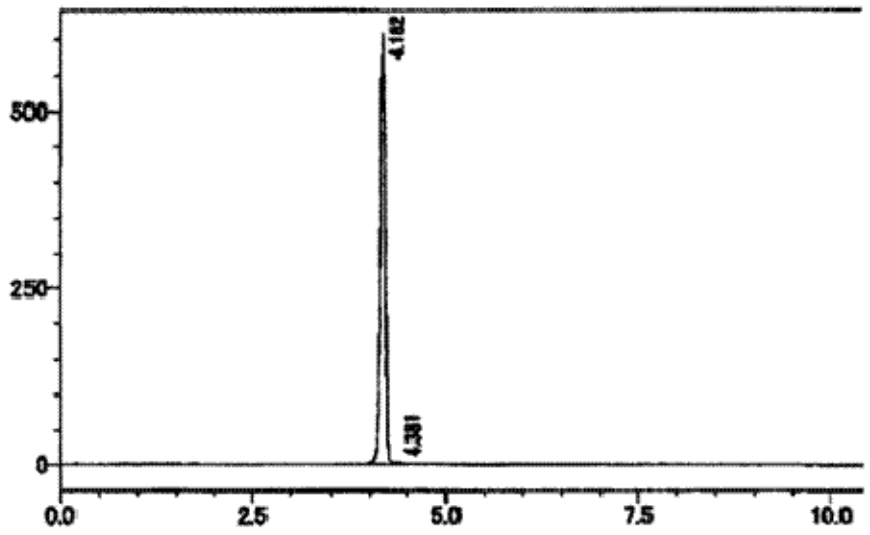


FIG. 9

Fr. 2: Delfinidin-3,5-diglucósido

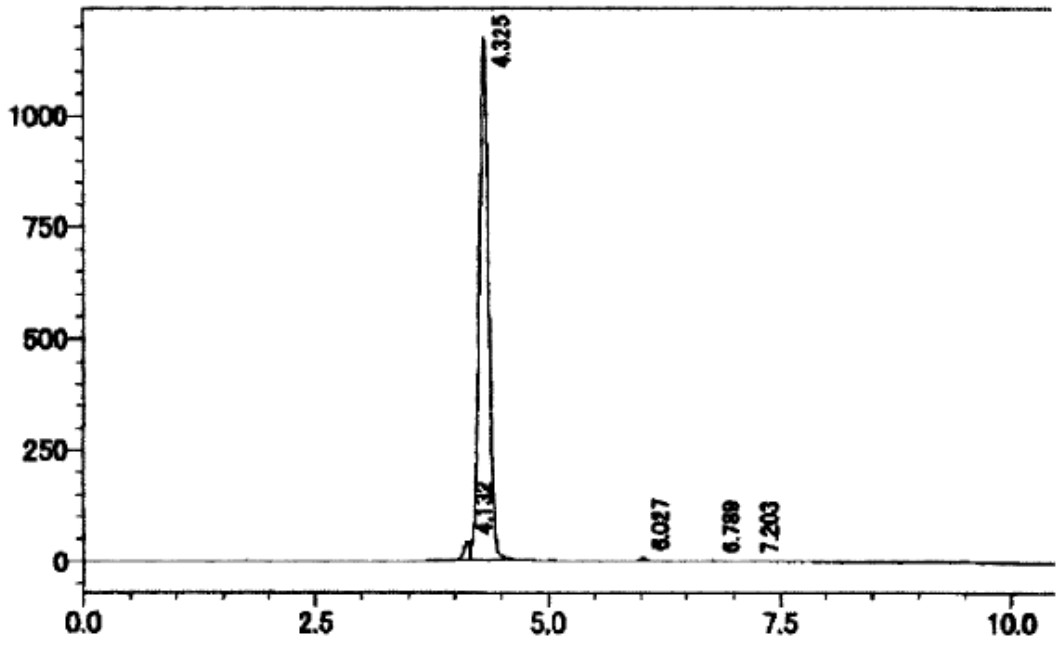


FIG. 10

Fr. 5: Delfinidin-3-sambubiósido

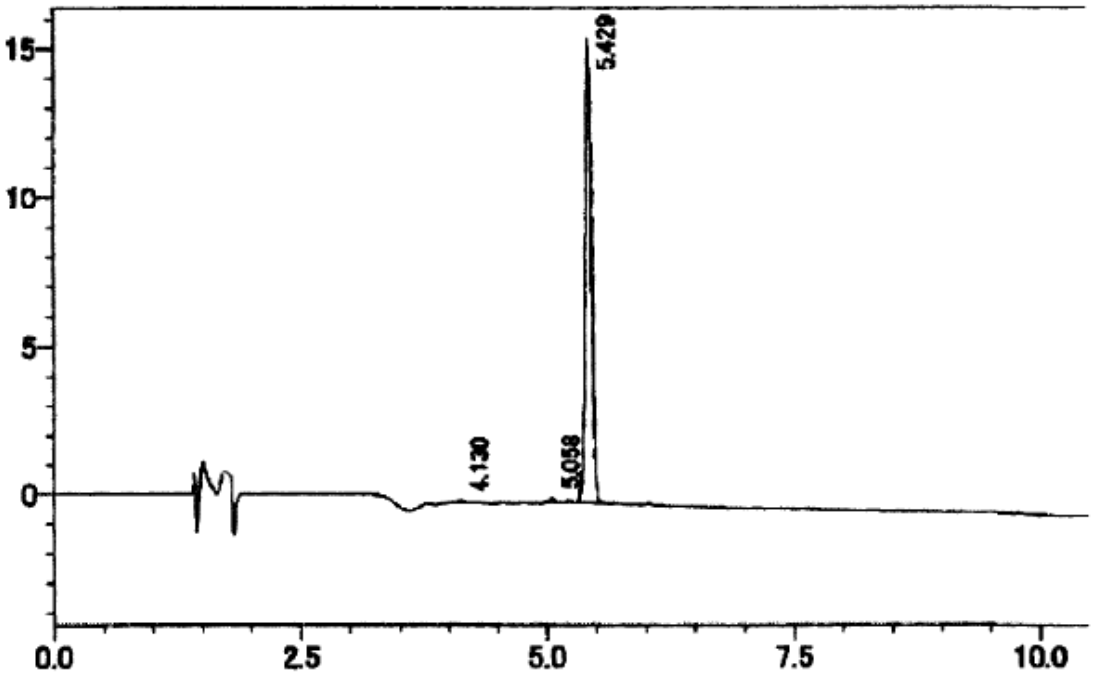


FIG. 11

Fr. 6: Delfinidin-3-glucósido

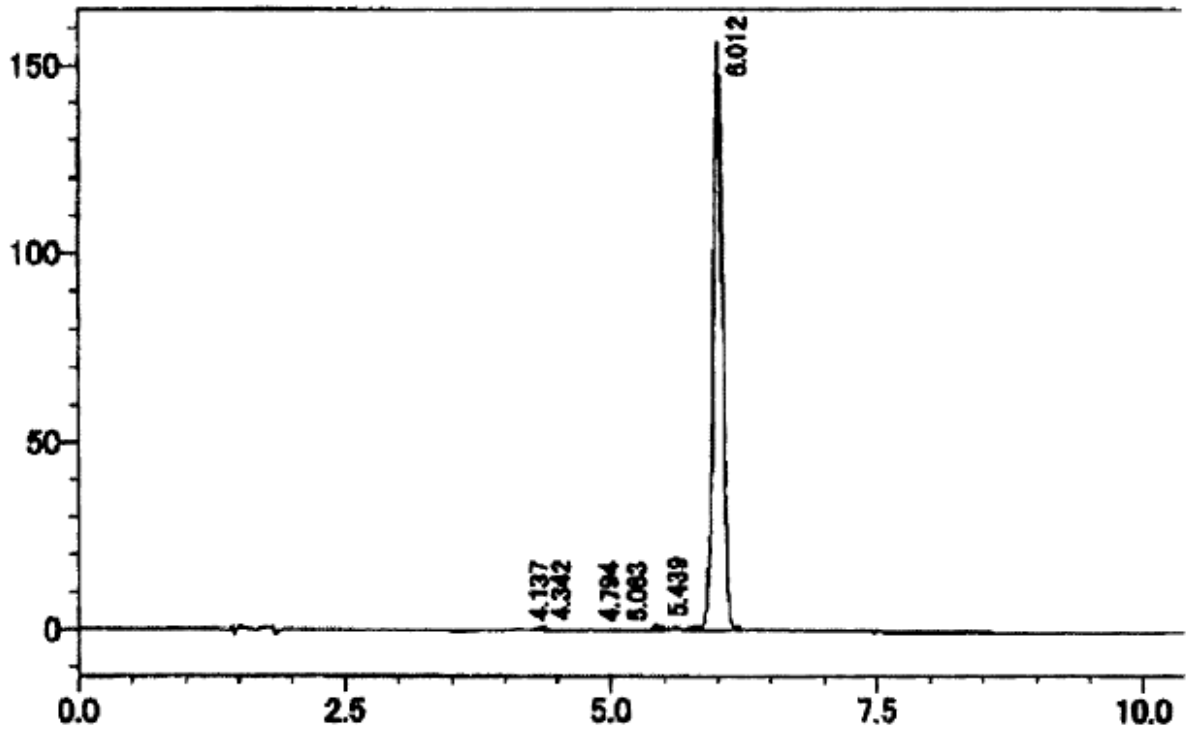
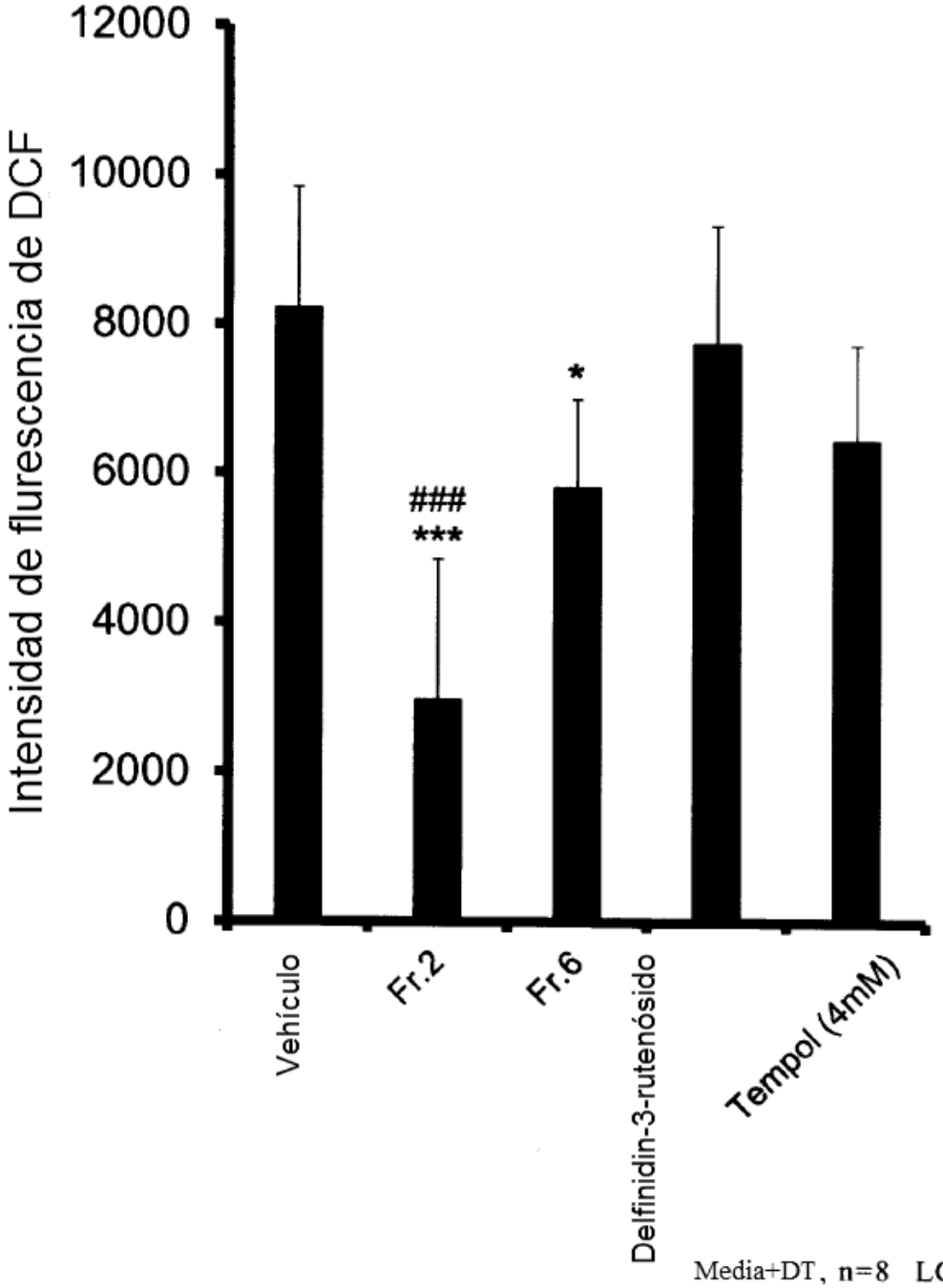


FIG. 12

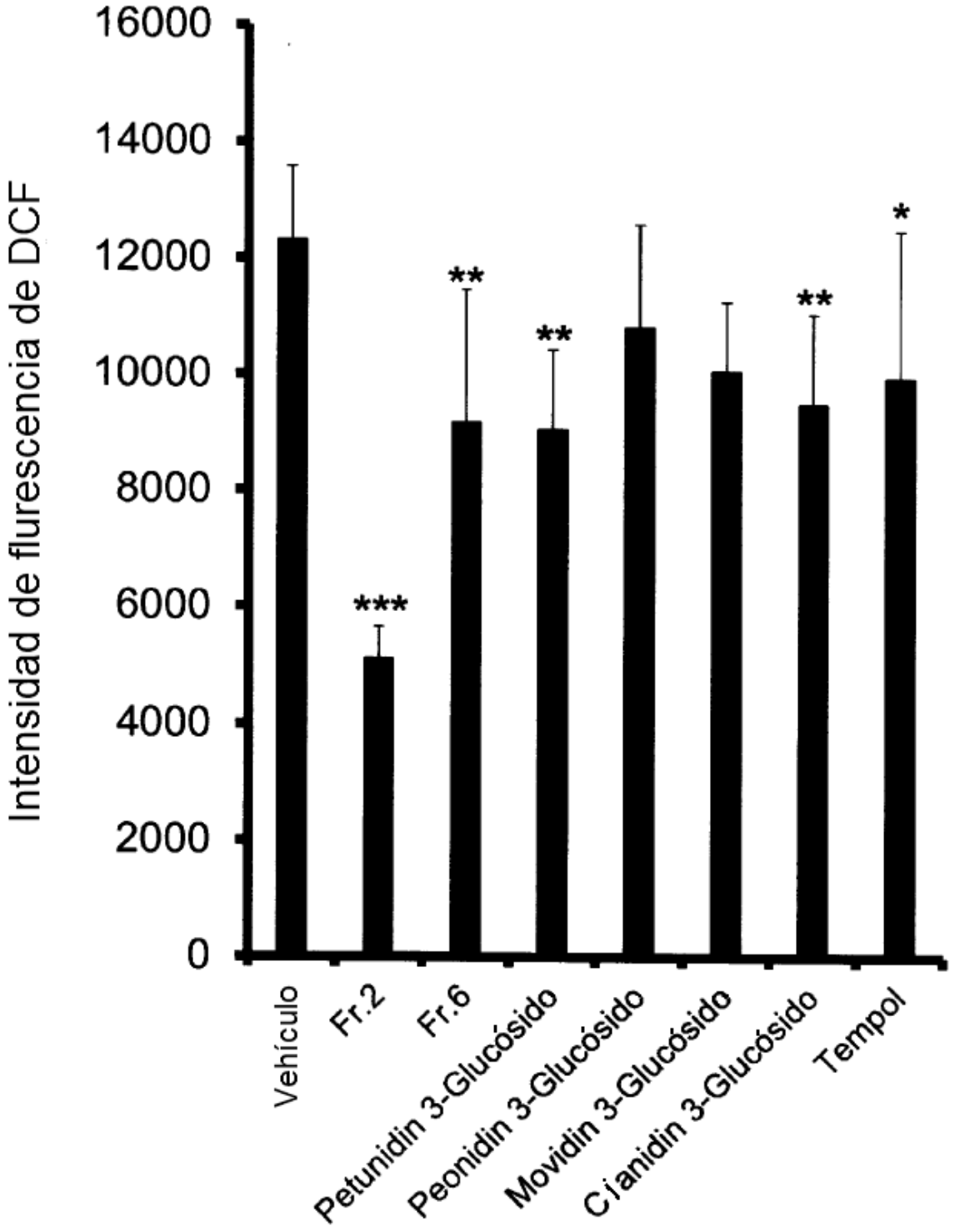


Media+DT, n=8 LG.

*p<0.05, ***p<0.001 frente a vehículo

###p<0.001 frente a Tempol

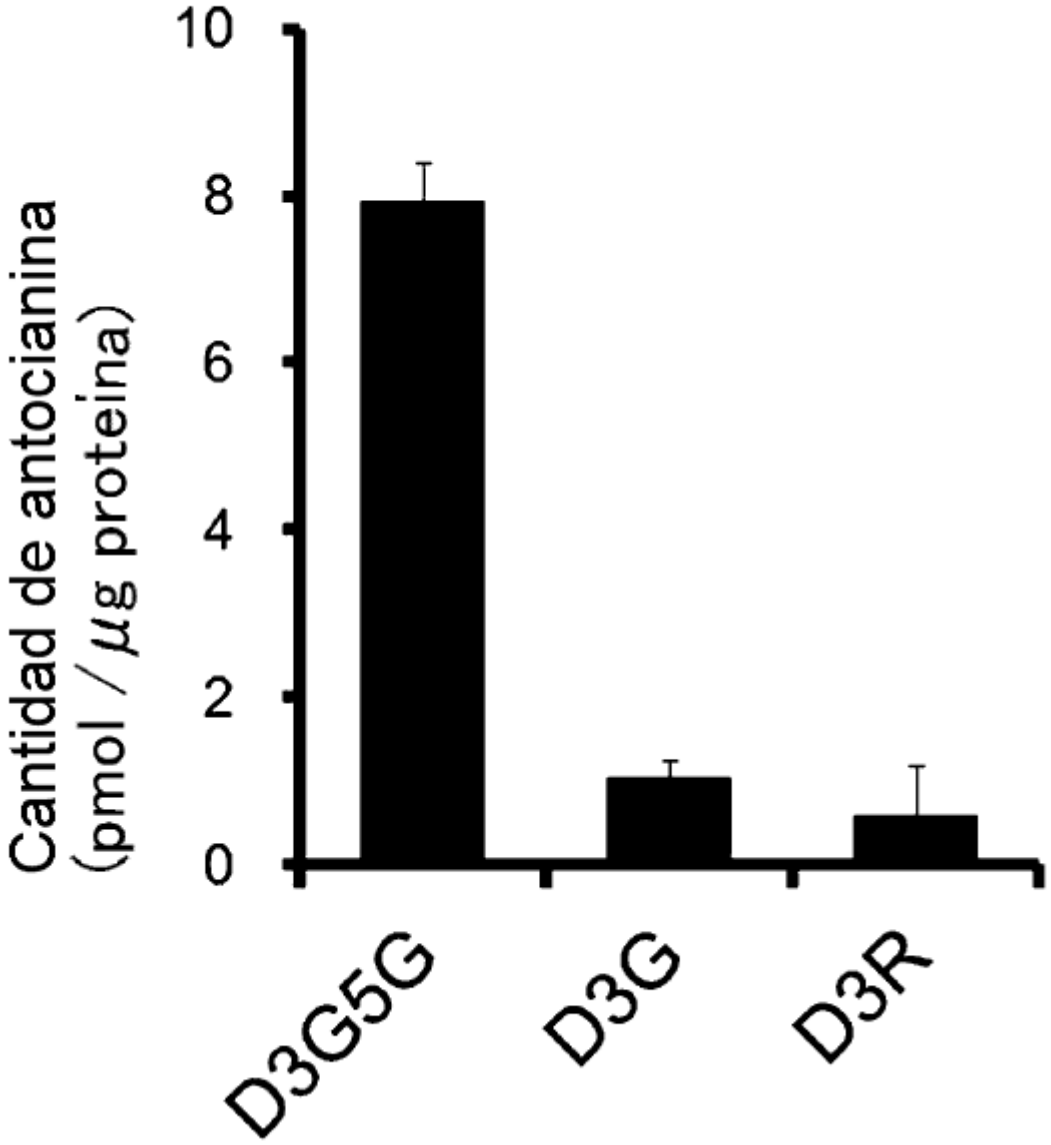
FIG. 13



Media+DT, n=8 LG.

*p<0.05, ***p<0.001 frente a vehículo

FIG. 14


10
8
6
4
2
0
Cantidad de antocianina
(pmol / μg proteína)
D3G5G
D3G
D3R