



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 311 177**

51 Int. Cl.:
A61K 31/191 (2006.01)
A61P 37/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04806247 .5**
96 Fecha de presentación : **17.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1694320**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.08.2006**

54 Título: **Uso de composiciones que comprenden ácido oleánico y ácido ursólico en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la hipersensibilidad y la hiperreactividad.**

30 Prioridad: **19.12.2003 EP 03258087**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.02.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.02.2009

73 Titular/es: **Lipid Nutrition B.V.**
Hogeweg 1
1521 AZ Wormerveer, NL

72 Inventor/es: **Cain, Frederick W.;**
Stam, Wiro;
Schmid, Ulrike y
Collins, Geoff

74 Agente: **Urizar Anasagasti, José Antonio**

ES 2 311 177 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).

ES 2 311 177 T3

DESCRIPCIÓN

Uso de composiciones que comprenden ácido oleánico y ácido ursólico en la preparación de un medicamento para el tratamiento de la hipersensibilidad y la hiperreactividad.

Esta invención se refiere al uso de ciertos materiales para prevención o tratamiento de la hipersensibilidad y/o hiperreactividad.

La hipersensibilidad es un término usado para describir una respuesta inmune adaptativa que ocurre en una forma exagerada o inapropiada y que causa reacciones inflamatorias y daño tisular. La hipersensibilidad no es manifestada generalmente al primer contacto con un antígeno particular, sino que aparece generalmente en un contacto subsiguiente. La hipersensibilidad ha sido categorizada en cuatro tipos, Tipos I, II, III, y IV. Los primeros tres tipos son humorales y el cuarto es mediado por células T y macrófagos. La hipersensibilidad Tipo I puede ocurrir cuando una respuesta IgE está dirigida contra antígenos ambientales como polen y ácaros domésticos, y puede conducir a una reacción inflamatoria aguda con síntomas como asma o rinitis.

La hiperreactividad es una característica de muchas enfermedades inflamatorias del pulmón y es un grado exagerado de estrechez de las vías aéreas (Blease *et al*, *Raspar Res.* 2000; 1(1):54-61). La hiperreactividad puede ser definida como una respuesta exagerada no inmune bronco-constrictiva a bajas concentraciones de histamina o metacolina inhaladas. La hiperreactividad bronquial de este tipo es casi una manifestación constante del asma (American Academy of Asthma and Allergy, *Asthma and Immunology*, en *The News* 2003, Mechanisms in bronquial hyper-reactivity).

Dai Y *et al*, *Zhongguo Yao Li Xue Bao.* 1988 Nov; 9(6):562-5 describen la inhibición de las reacciones de hipersensibilidad por el ácido oleanólico. El documento JP-A- 3287530 (Snow Brand Milk Prod Co Ltd) revela un agente inmunosupresivo que comprende ácido ursólico o ácido cetoursólico como ingrediente activo.

Raphael *et al*, *Phytomedicine*, 10, 483-499, 2003, publican el efecto del ácido glicirrónico, ácido ursólico, ácido oleanólico, y nomilina sobre el sistema inmune. Los compuestos se establecen como responsables de incrementar la producción de anticuerpos, mientras que el ácido ursólico, el ácido oleanólico y la nomilina son descritos como que inhiben una reacción de hipersensibilidad de tipo retardada.

Otras referencias que describen efectos saludables del ácido ursólico y el ácido oleanólico incluyen las patentes US 4752606, JP 09/040 689, JP 09/ 067 249, JP 09/020,674, CN 1 085 748, JP 1 039 973, JP 03/287 531, JP 03/287 43, EP 774255; JP 07/258 098, JP 07/048 260, JP 01/132 531, FR 2 535 203 y JP 1 207 262.

La patente EP-A-1161879 describe una mezcla que comprende ácido ursólico y ácido oleanólico en una relación de peso desde 1:99 hasta 99:1, en donde la mezcla contiene menos del 20% en peso de los componentes naturales apolares y/o de bajo peso molecular, tal como están presentes en los extractos naturales para el ácido ursólico y el ácido oleanólico.

La patente EP-A-1123059 describe mezclas de grasas con una composición que comprende ácido ursólico y ácido oleanólico. Las composiciones desarrollan altas velocidades de cristalización.

La patente JP-A-11012178 publica agentes médicos que comprenden un derivado oleanólico (3-O-monodesmosida).

Dai Y *et al*, 1989; 10(4):381-4 describen la inhibición de las reacciones de hipersensibilidad al ácido oleanólico.

Se ha observado que composiciones que comprenden ácido ursólico y ácido oleanólico, junto con otros ácidos triterpénicos (algunas veces también referidos como ácidos triterpénicos), los cuales pueden ser obtenidos como extractos a partir de materiales naturales, pueden ser usados en el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad y/o la hiperreactividad.

Según la invención en un primer aspecto se proporciona el uso de un material que comprende desde el 30 hasta 80% en peso de ácido ursólico, desde 2 hasta 25% en peso de ácido oleanólico y desde 1 hasta 68% en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos, dichos porcentajes siendo basados en el peso de dichos ácidos o sales, o ésteres y los porcentajes de dichos ácidos o sales, o ésteres incrementándose hasta el 100%, en la fabricación de una composición para prevención o tratamiento de la hipersensibilidad y/o hiperreactividad. La invención también contempla este material para uso en la prevención o tratamiento de la hipersensibilidad y/o hiperreactividad.

La hipersensibilidad es típicamente una alergia. Es preferible que el material tenga el efecto de disminuir el nivel de IgE cuando es ingerido por un sujeto (de preferencia un mamífero, más preferiblemente un humano). Se considera que esta reducción en los niveles de IgE es al menos parcialmente responsable de la reducción de la hipersensibilidad.

Un efecto preferido para el material de la invención es la inhibición o prevención de la constricción de los tubos bronquiales, por ejemplo en el tratamiento del asma. El material puede reducir la hipersensibilidad de las vías aéreas a irritantes y virus inhalados, así como a cambios de temperatura.

ES 2 311 177 T3

La invención puede ser útil en el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad y/o hiperreactividad. Los síntomas que pueden ser prevenidos y/o tratados de acuerdo a la invención incluyen el asma, expectoración (incluyendo expectoraciones secas, expectoraciones por cosquilleo y más expectoraciones productivas), silbido y nariz acatarrada.

5 Se prefiere la administración o el consumo oral del material y/o composición. El material y/o composición están por lo tanto adaptados preferentemente para la administración oral.

El material puede ser formulado en un número de formas de productos diferentes incluyendo por ejemplo una composición farmacéutica, alimento o suplemento alimenticio. Preferentemente, la composición farmacéutica, alimento o
10 suplemento alimenticio comprende una cantidad total de ácido ursólico y ácido oleanólico en una cantidad de dosificación desde 0,02 g hasta 20 g por día. Las composiciones pueden comprender uno o más componentes posteriores que son útiles en el tratamiento y/o prevención de la hipersensibilidad o hiperreactividad.

Las composiciones de la invención pueden también comprender uno o más componentes adicionales seleccionados a partir del ácido linoleico conjugado (CLA, de su nombre ingles, conjugated linoleic acid), aceite de pescado, ácidos
15 trienoicos conjugados y mezclas de los mismos.

Una composición preferida de acuerdo a la invención es un alimento. Los alimentos incluyen líquidos (e.g, bebidas) y sólidos. Los alimentos serán debidamente empaquetados y etiquetados como alimentos. Los alimentos convencio-
20 nales pueden incorporar el material de la invención en una cantidad conveniente.

Las composiciones farmacéuticas pueden, por ejemplo, estar en forma de tabletas, píldoras, cápsulas, pequeñas cápsulas ovales, multiparticulados incluyendo: gránulos, cuentecillas, pelletas, y partículas microencapsuladas; pol-
25 vos, elixires, jarabes, suspensiones, emulsiones y soluciones. Las formas del producto preferidas son las tabletas, cápsulas, soluciones y emulsiones. Las composiciones farmacéuticas comprenderán un disolvente o portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas son adaptadas preferentemente para una administración parenteral (e.g, oralmente). Las composiciones administrables oralmente pueden estar en forma sólida o líquida y pueden tomar la forma de tabletas, polvos, suspensiones o jarabes. Opcionalmente, las composiciones comprenden uno o más agentes saborizantes y/o colorantes. Los portadores farmacéuticos aceptables convenientes para el uso en di-
30 chas composiciones son bien conocidos en la técnica farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener 0,1-99% en peso del material de la invención. Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan generalmente en forma de dosis unitarias.

Ejemplos adicionales de composiciones de la invención son los suplementos alimenticios en forma de gel blan-
35 do o cápsula dura que comprende un material de encapsulación seleccionado entre un grupo que consta de gelatina, almidón, almidón modificado, derivados de almidón como la glucosa, sacarosa, lactosa y fructosa. El material de encapsulación puede contener opcionalmente agentes de reticulación y agentes polimerizantes, estabilizadores, antioxidantes, agentes absorbentes de la luz para proteger los rellenos sensibles a la luz, preservantes y semejantes. Preferentemente, las dosis unitarias de la composición de la invención en los suplementos alimenticios se encuentran desde 1 mg hasta 1000 mg (más preferentemente desde 100 mg hasta 750 mg).
40

Los alimentos preferidos incluyen aquellos seleccionados del grupo que consta de margarinas, untables continuos o bicontinuos de agua o de grasa, untables reducidos en grasa, productos de confitería como capas de chocolate o relleno de chocolate o rellenos de bollería, helados, capas de helado, inclusiones de helado, aderezos, mayonesas,
45 quesos, alternativas de cremas, sopas secas, bebidas, barras de cereales, salsas, barras de aperitivo, productos lácteos, productos clínicos de nutrición y formulaciones para niños. Los alimentos preferentemente contienen de 0,001% hasta 5% en peso (más preferentemente 0,01% hasta 4%, aún más preferentemente 0,1% hasta 3%, de más preferencia 0,1% hasta 2% o 0,1% hasta 1% en peso) del material de la invención.

Ciertos productos alimenticios preferidos para usarlos en la invención comprenden el material en forma de mezcla con otros componentes en particular como mezcla con glicéridos, preferentemente triglicéridos. La mezcla contiene preferentemente de 1 a 99% en peso, más preferentemente de 5 a 80% en peso de uno o más componentes selecciona-
50 dos de mono-, di- y triglicéridos. La parte glicérica de esta mezcla desarrolla preferentemente un contenido de grasa sólida medido por la técnica de pulso en RMN sobre una grasa no estabilizada a la temperatura indicada de 5 a 90 a 55 5°C, 2 a 80 a 20°C, y menos de 15 , preferentemente menos de 10 a 35°C.

El contenido de grasa sólida es medido por la conocida técnica de pulso en RMN sobre una grasa que no está estabilizada, esto significa que la medición fue realizada sobre una grasa que fue sometida al tratamiento siguiente: se fundió a 80°C, se mantuvo a 80°C durante 15 minutos, se enfrió a 0°C y se mantuvo a 0°C durante 30 minutos, se calentó a una temperatura de medición y se mantuvo a una temperatura de rellanado durante 30 minutos y se midió el valor N a esta temperatura.
60

Las mezclas preferidas comprenden los componentes A, B y C, en donde:

65 A es el material en concordancia a la invención

B es una grasa sólida con un N20 de más de 20, preferentemente más de 45, más preferentemente superior a 60 y

ES 2 311 177 T3

C es una grasa que tiene al menos un 40% en peso de ácidos grasos con 18 átomos de carbono y que tiene de 1 a 3 enlaces dobles.

5 A está típicamente presente en cantidades de más de 0,1% en peso, preferentemente de 0,1 a 20% en peso, más preferentemente de 0,2 a 10% en peso. B puede estar presente en cantidades de 8 a 90% en peso, preferentemente de 25 a 75% en peso, más preferentemente de 40 a 70%. C puede estar presente en cantidades de 0 a 85% en peso, preferentemente de 15 a 65% en peso, más preferentemente de 20 a 50% en peso.

10 En estas mezclas, el componente de grasa B es preferentemente seleccionado a partir del grupo que consta de aceite de palma, fracciones de aceite de palma; equivalentes de mantequilla de cacao; aceite de la semilla de palma; aceite endurecido de soja; aceite endurecido de girasol; aceite endurecido de la semilla de colza; fracciones endurecidas de aceite de soja; fracciones endurecidas del aceite de colza; fracciones endurecidas del aceite de girasol; mezclas de uno o más de estos aceites y mezclas interesterificadas de los mismos.

15 El componente de grasa C en general será un aceite líquido y es preferentemente seleccionado del grupo que consta de aceite de girasol; aceite de oliva; aceite de soja; aceite de colza; oleína de aceite de palma; aceite de la semilla de algodón; fracciones de oleínas de aceites vegetales; aceites vegetales ricos en oleicos como el HSOF (= aceite de girasol rico en oleicos) o el HGRP (= aceite de Colza rico en oleicos); aceites de pescado; concentrados de aceite de pescado y ácido linoleico conjugado (CLA)- glicéridos.

20 Las mezclas que comprenden los componentes A, B y C revelados arriba tienen excelentes propiedades para la aplicación en productos alimenticios que contienen una fase grasa.

25 Las mezclas pueden también contener otros aditivos conocidos como preservantes, colorantes, estabilizadores, vitaminas y minerales.

El material de la invención comprende ácido ursólico, ácido oleanólico y otros ácidos triterpénicos, o ésteres, o sales de cualquiera de estos ácidos y se considera que la mezcla de los ácidos proporciona ventajas sobre los ácidos correspondientes usados aisladamente. El material de la invención comprende de 30% al 80% en peso del ácido ursólico, desde un 2% hasta el 25% en peso del ácido oleanólico y de 1% hasta el 68% en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o al ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos. Los ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico y al ácido oleanólico incluyen ácido maslínico. Preferentemente, el material de la invención comprende de 40 hasta 80% (así como de 40 hasta 70%) en peso del ácido ursólico, de 5 hasta 15% en peso del ácido oleanólico y de 10 hasta 50% (así como de 25 hasta 50%) en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o al ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos. De más preferencia, el material de la invención comprende de un 45 hasta el 65% en peso de ácido ursólico, de un 5 hasta el 15% en peso del ácido oleanólico y de un 10 hasta el 50% en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o al ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos. De más preferencia aún, el material de la invención comprende de un 50 hasta el 60% en peso de ácido ursólico, de 8 hasta 12% en peso del ácido oleanólico y de un 30 hasta el 40% en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o al ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos. Estos porcentajes son basados en el peso de estos ácidos en el material. Basado en el peso del material, el material comprende preferentemente ácido ursólico, ácido oleanólico y otros ácidos triterpénicos (o sales o ésteres de los mismos) en una cantidad total de un 30% hasta el 100% en peso, de preferencia de un 30% hasta el 95% en peso, de más preferencia aun de un 30% hasta el 90% en peso, así como de un 30% hasta el 70% en peso, o del 40% al 60% en peso. Otros componentes del material pueden incluir triglicéridos, materiales polares y componentes minoritarios.

50 Derivados del ácido ursólico, ácido oleanólico y otros ácidos triterpénicos que son convenientes para el uso en la invención incluyen sales derivadas de los ácidos, los cuales no son tóxicos a los niveles usados y no inhiben la actividad de los ácidos. Los derivados convenientes incluyen ésteres (e.g., con un alcohol que comprenda de 1 hasta 22 átomos de carbono, así como ésteres alquílicos de C₁ hasta C₆) y sales (e.g., sales de sodio o potasio). Preferentemente, sin embargo, el material comprende los ácidos en forma de ácido libre. Las sales de sodio del ácido ursólico, ácido oleanólico y ácidos triterpénicos, opcionalmente, en mezcla con los ácidos libres, son también preferidas.

55 El material de la invención es preferentemente extraído, o si no, obtenido, a partir de la corteza de frutas y preferentemente tiene sustancialmente la misma proporción de ácido ursólico con relación al ácido oleanólico que está presente en la corteza de la fruta natural. La corteza de la fruta está derivada convenientemente de frutas seleccionadas a partir de manzanas, arándanos, aceitunas, uvas y mezclas de los mismos. El material puede también ser tratado como está descrito en la patente EP-A-1161879 con el fin de mejorar las propiedades al paladar. Los ácidos triterpénicos en el material de la invención son obtenidos preferiblemente por tanto a partir de la corteza de la fruta.

60 El material de la invención es obtenido preferentemente mediante un proceso que comprende el tratamiento de la corteza de la fruta (opcionalmente secada y lavada opcionalmente con agua y/o un solvente el cual es inmisible con agua en cantidades equimolares a 25°C, como el hexano) con un solvente orgánico (preferentemente acetona o una mezcla de acetona y agua), remoción del solvente para formar un extracto, opcionalmente secado y promover opcionalmente la purificación del extracto seco. Los pasos adicionales de la purificación incluyen, por ejemplo, la disolución del extracto seco en acetona y la filtración de la solución resultante, después de lo cual el solvente es removido; y lavado el extracto seco con agua (e.g., a una temperatura elevada como de 40 a 90°C).

Los derivados de los ácidos pueden ser preparados como corresponde. Por ejemplo, un material que comprende la sal sódica del ácido ursólico, ácido oleanólico y otros ácidos triterpénicos pueden ser preparados mediante el tratamiento de la corteza de la fruta (opcionalmente, secada y lavada opcionalmente con agua y/o un solvente el cual es inmiscible con agua en cantidades equimolares a 25°C, como el hexano) con un solvente orgánico (preferentemente acetona o una mezcla de acetona y agua) en presencia de una sal básica de sodio (e.g., hidróxido de sodio) a una concentración conveniente (como de 0,1 a 1 M, preferentemente de 0,4 a 0,6 M). Cualquiera de los sólidos puede ser removido a partir de la mezcla resultante (e.g., mediante filtración), y el solvente removido (e.g., al vacío, preferentemente a 60°C aproximadamente) para formar una suspensión. La suspensión resultante puede ser filtrada de nuevo y, opcionalmente, lavada con agua para formar la mezcla de sal sódica como residuo que puede ser secado y opcionalmente además purificado.

Los siguientes ejemplos no limitantes ilustran la invención. En los ejemplos y a lo largo de esta solicitud, todos los porcentajes, partes y proporciones están en peso a menos que sea indicado lo contrario.

Ejemplos

Los ejemplos se refieren a los dibujos acompañantes en los cuales:

La Figura 1 es una representación de la pletismografía total corporal e incrementos en la pausa acentuada respecto a la concentración de metacolina para grupos antes y después del tratamiento según la invención.

La Figura 2 es un gráfico de barras mostrando los niveles en suero de la IgE antes y después de la ovalbúmina (OVA) en cuatro grupos diferentes, uno de control y tres según la invención.

La Figura 3 es un gráfico de barras mostrando el efecto de un material según la invención, el cual está en forma de una sal sódica de un extracto de manzana, en la disminución de la hiperreactividad bronquial a la metacolina comparada con un control.

Ejemplo 1

Aproximadamente 25000 kg de pulpa de manzana (principalmente de la corteza y del núcleo) fue secada al horno a 100-150°C para producir 6000 kg aproximadamente de pulpa de manzana seca conteniendo menos del 10% del contenido de humedad en peso. La pulpa seca fue molida para pasar a través de una pantalla de 20 mm dejando la mayoría de las pepitas intactas.

La extracción de la pulpa seca/molida fue realizada en un extractor de contraflujo de diez pasos con acetona caliente a 50-55°C hasta que se extrajo más del 95% de extraíbles con la acetona. La acetona fue extraída en un par de evaporadores de capa fina al vacío. Al mismo tiempo, se añadió agua purificada para hacer una suspensión acuosa de compuestos no polares incluyendo los triterpenoides.

La suspensión acuosa resultante, que contenía de 5 a 15% de sólidos fue puesta a enfriar, y luego se centrifugó para eliminar la mayoría del agua presente, dando como resultado una capa húmeda. Se vertió agua caliente purificada adicional por la capa para eliminar la mayoría de los compuestos polares remanentes incluyendo azúcares.

La capa húmeda fue suspendida en agua purificada para facilitar el bombeo, luego se roció en seco para producir un polvo fino seco (contenido de humedad menor que 0,5%). El polvo fino de las bolsas del filtro fue recombinado con el resto del producto. Esto dio como resultado 617 kg del extracto de manzana seco.

Para una purificación adicional, 120 kg del extracto fueron disueltos en 9600 kg de acetona a 40°C. Después, fueron adicionados 7,2 kg de carbón activo Norit SA4 (9 kg) y la mezcla fue agitada durante un período de 6 horas de 47 a 53°C. El carbón activo fue eliminado con ayuda de un filtro Arbocel 00 en combinación con dos placas de filtros en serie de 1-3 µm.

La acetona fue extraída en un par de evaporadores de capa fina al vacío. Al mismo tiempo, se añadió agua purificada para hacer una suspensión acuosa de compuestos no polares incluyendo los triterpenoides.

Ésta fue después rociada en seco para producir un polvo seco fino (< 0,5% en contenido de humedad). El polvo fino de las bolsas de filtro fue recombinado con el resto del producto. En total, fueron obtenidos 67,2 kg del extracto purificado.

El producto resultante comprendió aproximadamente un 55% en peso de ácido ursólico, aproximadamente 10% en peso de ácido oleanólico y aproximadamente un 35% en peso de otros ácidos triterpénicos, basados en el peso de estos ácidos en el material. Los ácidos triterpénicos formaron aproximadamente un 49% en peso del producto basado en el peso total del material.

ES 2 311 177 T3

Ejemplo 2

Los pacientes que sufren de asma alérgica están caracterizados por la presencia de anticuerpos IgE específicos a los alérgenos y la presencia de una hiperreactividad no específica de las vías aéreas. Dos modelos de ratones fueron usados para investigar el efecto del extracto de pulpa de manzana conteniendo ácido ursólico respecto a los niveles de IgE (Ejemplo 3) y respecto al desarrollo de una hiperrespuesta a la metacolina de las vías aéreas (Ejemplo 2).

Fueron obtenidos ratones BALB/cB y JIco. Al arribar, los animales fueron pesados y marcados. Los animales fueron colocados con dietas conteniendo el ingrediente activo a los 7-4 días antes de iniciar el protocolo.

Protocolo 1

Efecto de la hiperreactividad de las vías aéreas

Los animales (n= 14 por grupo) fueron alimentados con una dieta mezclada con uno entre los siguientes:

Grupo 1: sin aditivo

Grupo 2: sal sódica de los ácidos ursólico y oleanólico a una dosis del 0,75%

Grupo 3: extracto al 2,5% del Ejemplo 1

Grupo 4: extracto al 4% del Ejemplo 1

Día 0-14: Siete veces en días alternos una inyección intraperitoneal con 10 μ g de ovalbúmina (OVA).

Día 27: Colectada sangre para la determinación de inmunoglobulina específica para OVA.

Día 31: Medición de la reactividad basal de las vías aéreas a la metacolina.

Día 38-45: Tratamiento durante 8 días en días alternos con 2 mg de OVA/ml de salina por inhalación.

Día 46: Medición de la reactividad basal de las vías aéreas a la metacolina.

Los resultados son mostrados en la Figura 1.

Uso de una pletismografía total corporal e incrementos en la pausa acentuada (Penh) como un índice de la obstrucción de las vías aéreas, fue medida la reactividad de las vías aéreas. A partir de los resultados en la Figura 1 está claro que los ratones de control (grupo 1) desarrollaron una hiperrespuesta de las vías aéreas a las dosis incrementadas de metacolina. Adicionalmente, queda muy claro que el tratamiento con una sal pura de ácido ursólico (grupo 2) y el tratamiento con el extracto al 2,5% y 4% (grupos 3 y 4, respectivamente) inhibieron fuertemente el desarrollo de la hiperreactividad de las vía aéreas.

Este ejemplo muestra que el extracto según la invención redujo la hiperreactividad de las vías aéreas en un modelo de asma en ratón.

Ejemplo 3

El efecto del extracto sobre los niveles específicos de IgE al alérgeno fue estudiado.

Ratones BALB/c machos SPF de 6 semanas de edad fueron utilizados. Cuatro grupos fueron utilizados en el estudio:

i) control

ii) extracto al 0,5% UA de la dieta

iii) extracto al 1% UA de la dieta

iv) extracto al 2,5% UA de la dieta

ES 2 311 177 T3

Fue empleado el siguiente protocolo:

- día 0 a 7: sensibilización i.p. con OVA (alérgeno)+ alumbre.
- 5 día 20: medición de la IgE antes del enfrentamiento.
- días 21; 24, 27: enfrentamiento con OVA-aerosol o salina 3 veces durante 3 días.
- día 28: medición de la IgE post-enfrentamiento.

10

Los resultados son mostrados en la Figura 2.

15

A partir de la Figura 2, está claro que, después del tratamiento con OVA, es inducida la IgE específica en todos los grupos (diferencia entre antes y después). Sin embargo, queda claro también que la incorporación de ácido ursólico a través de la dieta da como resultado una disminución dependiente de la dosis de los niveles de IgE.

Este ejemplo muestra que el extracto según la invención redujo los niveles de IgE en un modelo de ratón.

20

Ejemplo 4

25

El siguiente es un ejemplo de una cápsula llena con gelatina según la invención. Un extracto producido según el Ejemplo 1 es encapsulado dentro de una cápsula de gelatina según métodos bien conocidos en la técnica. El producto encapsulado resultante contiene 500 mg de la mezcla del extracto, y puede ser tomada una tableta cuatro veces al día por un adulto humano.

30

Ejemplo 5

El siguiente es un ejemplo de una untura de tipo margarina según la invención. La untura puede ser preparada según el procedimiento descrito en el Ejemplo 4 de WO 97/18320.

35

Fase grasa:

40

Mezcla de grasa*	40%
Himono 7804 (emulsionante)	0,3%
Color (2% de β -caroteno)	0,02%
Total	40,32%

45

*87.13 en peso de aceite de girasol y caldo bruto

50

Fase acuosa (a pH 5,1):

55

Agua	55,94%
Extracto del Ejemplo 1	0,5%
Polvo de leche descremada	1,5%
Gelatina (270 bloom)	1,5%
Sorbato de potasio	0,15%
Ácido Cítrico en Polvo	0,07%
Total	59,66%

65

Ejemplo 6

Preparación de la sal sódica de ácidos triterpénicos

5 El extracto de manzana lavado con 40 g de hexano fue solubilizado completamente en 400 ml de acetona a temperatura ambiente. En aproximadamente 10 minutos fueron adicionado 290 ml de NaOH al 0,5 M y la mezcla fue agitada durante 20 minutos aproximadamente. La solución de reacción fue filtrada sobre un papel de filtro y la acetona fue removida a 60°C al vacío. La suspensión resultante fue filtrada sobre un filtro Buchner y la capa de filtro lavada con agua destilada fría y secada a temperatura ambiente.

10

Ejemplo 7

Estudio de eficacia en animales

15

Los pacientes que sufren de asma alérgica están caracterizados por la presencia de anticuerpos IgE específicos a los alérgenos, la hiperreactividad de las vías aéreas y la presencia de una inflamación crónica en las vías aéreas con predominio de eosinófilos. Ha sido bien caracterizado un modelo de ratón (BALB/c) desarrollado con características similares a los pacientes asmáticos.

20

Los ratones fueron sensibilizados con ovalbúmina (OVA) sin ningún adyuvante mediante 7 inyecciones vía intraperitoneal en días alternos desde el día 1 hasta el día 13. Posteriormente, estos ratones sensibilizados fueron tratados mediante exposición con un aerosol conteniendo OVA desde el día 33 hasta el día 40. Los ratones fueron sacrificados en el día 41. La hiperreactividad bronquial para la metacolina fue medida en el día 41.

25

El presente estudio constó de 7 grupos de tratamiento de 14 animales por grupo. Los extractos fueron mezclados en la dieta y fueron alimentados desde el día 0 hasta el final del estudio.

Fueron ensayados los grupos siguientes:

30

Grupo A1: Sal sódica de extracto de manzana, en donde 0,85% de ácidos triterpénicos están en la dieta.

Grupo A2: Sal sódica de extracto de manzana, en donde 0,24% de ácidos triterpénicos están en la dieta.

35

Grupo A3: Sal sódica de extracto de manzana, en donde 0,085% de ácidos triterpénicos están en la dieta.

Grupo A4: Sal sódica de extracto de manzana, en donde 0,05% de ácidos triterpénicos están en la dieta.

40

Grupo B1: Sal sódica (Selco) disponible comercialmente comprendiendo ácido ursólico y ácido oleanólico, en donde 0,85% de estos ácidos triterpénicos están en la dieta.

Grupo C1: Extracto de manzana, en donde 0,85% de ácidos triterpénicos están en la dieta.

45

Grupo D: Control.

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

ES 2 311 177 T3

La composición de los grupos A1 a A4 fue producida según el Ejemplo 6.

La siguiente tabla muestra los niveles de ácidos triterpénicos en la composición usada.

5 Niveles de triterpenos en las preparaciones (%)

	Ácido ursólico, % en peso	Ácido oleanólico, % en peso	Otros ácidos triterpénicos, % en peso	Cantidad total de ácidos triterpénicos, % en peso en peso
10				
15	65,8	11,2	14,5	91,5
20	27,5	5,8	21,4	54,7
25	63,2	21,7	0,7	85,6
30				

35 La Figura 3 muestra los resultados de este experimento. La figura 3 demuestra que la sal sódica del extracto de manzana (grupo A1) reduce la hiperreactividad bronquial a la metacolina comparada con el grupo control (grupo D). El extracto A1 es el más potente, seguido del extracto de manzana (C1), seguido por el material de sal disponible comercialmente (B1). Para los grupos A1 a A4, hay una clara relación a la respuesta de la dosis. Puede ser concluido que tanto en los extractos de manzana, con sal y sin sal, a una dosis de 0,85% en la dieta conteniendo una combinación de ácidos triterpénicos son más activos que la sal sódica disponible comercialmente comprendiendo principalmente los ácidos ursólico y oleanólico. (El valor Penh es una medida de la reactividad de las vías aéreas y la metacolina es un agente broncoconstrictor). Los datos muestran que las composiciones de la invención, como es ejemplificada por el grupo A1, son superiores a las composiciones cercanas mostradas que tienen diferentes niveles de los ácidos ursólico y oleanólico, y/o niveles inferiores de otros ácidos triterpénicos.

45

Referencias citadas en la descripción

50 *Este listado de referencias citadas por el solicitante tiene como único fin la conveniencia del lector. No forma parte del documento de la Patente Europea. Aunque se ha puesto gran cuidado en la compilación de las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP rechaza cualquier responsabilidad en este sentido.*

Documentos de patentes citados en la descripción

- | | |
|--|---|
| <p>55 • JP 3287530 A</p> <p>• US 4752606 A</p> <p>• JP 9040689 A</p> <p>60 • JP 9067249 A</p> <p>• JP 9020674 A</p> <p>65 • CN 1085748</p> <p>• JP 1039973 A</p> | <p>• JP 7258098 A</p> <p>• JP 7048260 A</p> <p>• JP 1132531 A</p> <p>• FR 2535203</p> <p>• JP 1207262 A</p> <p>• EP 1161879 A</p> <p>• EP 1123659 A</p> |
|--|---|

ES 2 311 177 T3

- JP 3287531 A
- JP 11012178 A
- JP 3028743 A
- WO 9718320 A
- 5 • EP 774255 A

Literatura no relacionada con patentes citada en la descripción

- BLEASE *et al.* *Respir Res.*, 2000, vol. 1 (1), 54-61
- 10 • DAI Y *et al.* *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, November 1988, vol. 9 (6), 562-5
- RAPHAEL *et al.* *Phytomedicine*, 2003, vol. 10, 483-499

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 311 177 T3

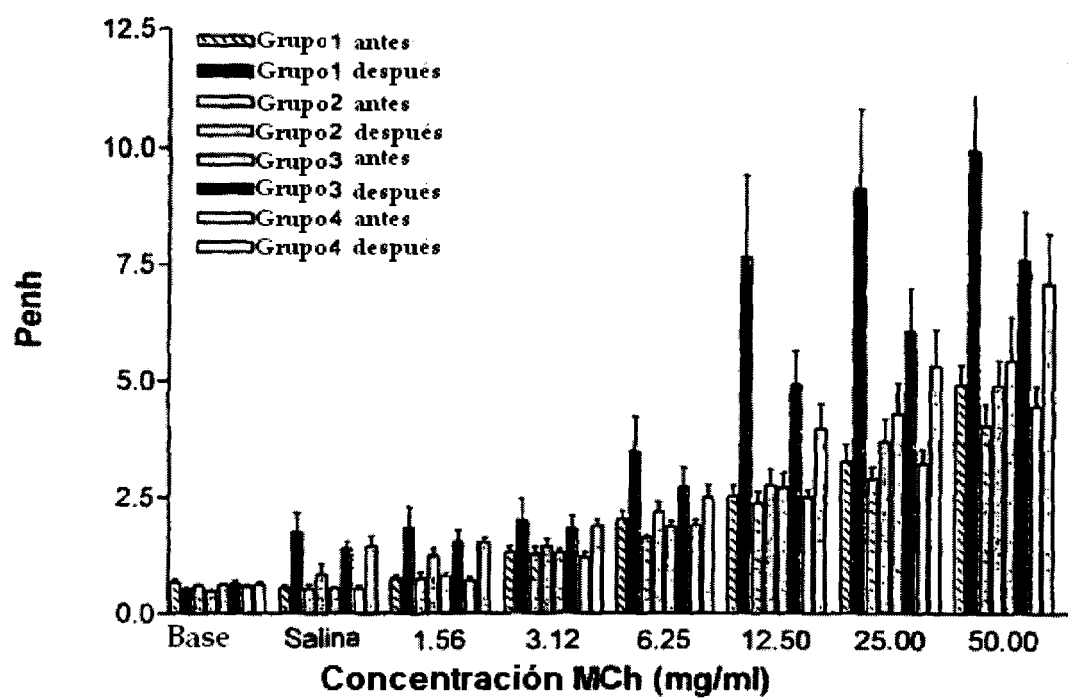
REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un material que comprende del 30 al 80% en peso de ácido ursólico, del 2 al 25% en peso de ácido oleanólico y del 1 al 68% en peso de ácidos triterpénicos diferentes al ácido ursólico o al ácido oleanólico, o sales o ésteres de cualquiera de estos ácidos, dichos porcentajes estando basados en el peso de dichos ácidos o sales, o ésteres y los porcentajes de dichos ácidos o sales o ésteres incrementándose hasta el 100%, en la fabricación de una composición para la prevención o el tratamiento de la hipersensibilidad y/o hiperreactividad.
- 10 2. Uso como se reivindica en la reivindicación 1, en donde la hipersensibilidad es una alergia.
3. Uso como se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la composición disminuye el nivel de IgE.
- 15 4. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la composición inhibe o previene la constricción de los tubos bronquiales.
5. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición es una composición farmacéutica, un alimento o un suplemento alimenticio.
- 20 6. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el ácido ursólico y/o ácido oleanólico están en forma de sal sódica o potásica.
7. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el ácido ursólico y/o ácido oleanólico están en forma de un éster con un alcohol que comprende de 2 a 22 átomos de carbono.
- 25 8. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la composición comprende una cantidad total de los ácidos ursólico y oleanólico en una cantidad de dosificación desde 0,02 g hasta 20 g por día.
- 30 9. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el ácido ursólico y el ácido oleanólico son extraíbles a partir de corteza de fruta.
10. Uso como se reivindica en la reivindicación 9, en donde la corteza de fruta proviene de frutas seleccionadas a partir de manzanas, arándanos, aceitunas, uvas y mezclas de las mismas.
- 35 11. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la composición es un alimento seleccionado a partir del grupo que consta de margarinas, alimentos untables continuos o bicontinuos de agua o de grasa, alimentos untables reducidos en grasas, productos de confitería como chocolate o rellenos de chocolate o capas de chocolate o rellenos de bollería, helados, capas de helado, inclusiones de helado, aderezos, mayonesas, quesos, alternativas a cremas, sopas secas, bebidas, barras de cereales, salsas, barras de aperitivo, productos lácteos, productos clínicos de nutrición y formulaciones para niños.
- 40 12. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la composición es una composición farmacéutica en forma de tableta, cápsula, solución o emulsión.
- 45 13. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la composición es un suplemento alimenticio en forma de gel blando o una cápsula dura que comprende un material de encapsulación seleccionado del grupo que consta de gelatina, almidón, almidón modificado, derivados del almidón como glucosa, sacarosa, lactosa y fructosa.
- 50 14. Uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la composición comprende uno o más componentes adicionales seleccionados entre ácido linoléico conjugado (CLA), aceite de pescado, ácidos trienoicos conjugados y mezclas de los mismos.

55

60

65



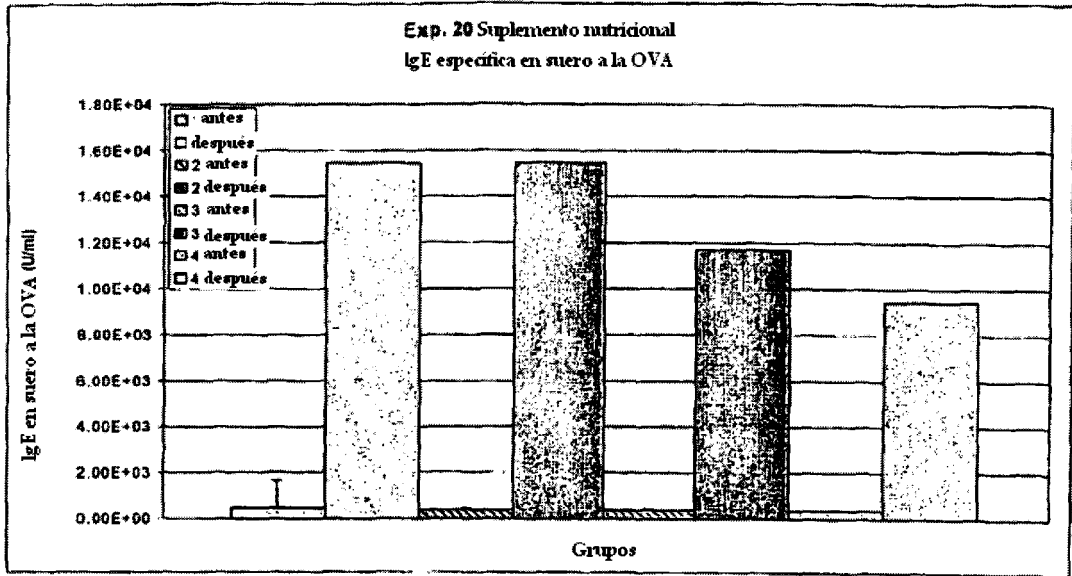


Figura 2

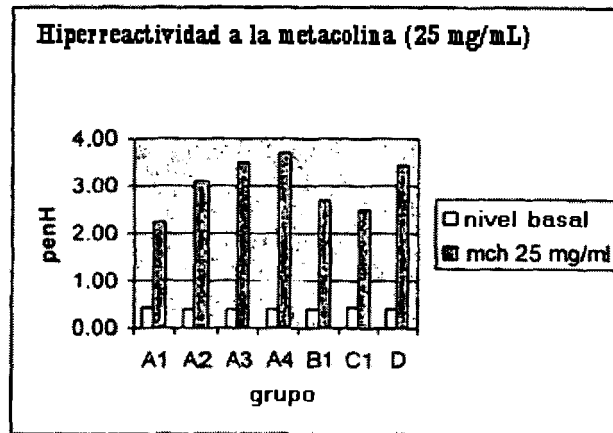


Figura 3