



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 333 796**

51 Int. Cl.:
A23K 1/16 (2006.01)
A23L 1/302 (2006.01)
A23L 1/305 (2006.01)
A23L 1/308 (2006.01)
A61K 35/74 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04813066 .0**
96 Fecha de presentación : **03.12.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1696735**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Composición antidiarreica que contiene glutamina.**

30 Prioridad: **05.12.2003 US 729450**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2010

73 Titular/es: **Hill's Pet Nutrition, Inc.**
400 Southwest 8th Street
Topeka, Kansas 66603, US

72 Inventor/es: **Khoo, Christina;**
Gross, Kathy, L.;
Jewell, Dennis;
Wedekind, Karen y
Zicker, Steven

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 333 796 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

Composición antidiarreica que contiene glutamina.

5 Antecedentes del invento

Mantener el bienestar del tracto GI de un mamífero es un objetivo muy deseable. Particularmente, las irritaciones son las condiciones inflamatorias del tracto GI. Alguna de las señales de la inflamación del tracto GI incluyen la diarrea crónica o aguda, deposiciones blandas, sangre en las deposiciones, vómitos, digestión y absorción pobre de los nutrientes, pérdida de peso y pobre apetito. Se conocen enfermedades tales como la gastritis, enteritis, colitis, enfermedad inflamatoria del intestino, úlceras, ciertos tipos de cáncer y otras condiciones por tener la inflamación del GI como componente principal.

El documento de patente de EE.UU. A-6.156.355 enseña una formulación de alimento para perros basada en carne de pollo, arroz, fruta y/o fibra vegetal como la fuente de fibra principal, antioxidantes, grasa, vitaminas y carotenoides. También se mencionan ácidos grasos n-3. Este documento de patente no señala ni la inflamación del tracto GI, ni la diarrea asociada con ella.

El documento de patente EP-A-0 674 842 se refiere a un producto de alimentación de animales domésticos para tratar trastornos gastrointestinales. El producto contiene fibras fermentables con una desaparición de la materia orgánica del 15-60% en peso cuando se fermentan con una bacteria fecal durante un periodo de 24 horas.

En un artículo en JAVMA 211 (5) (1997) 547-553 Nappart *et al.* enseña que la incorporación de glutamina en una disolución terapéutica de rehidratación oral para terneros diarreicos fomenta el calentamiento intestinal.

Kanauchi *et al.* describe en Biosci. Biotechnol. Biochem. 62 (2), (1998) 366-368 que un producto alimentario de cebada germinada previene la diarrea y forma heces normales en ratas ceco-colectomizadas.

Correa-Matos *et al.* (Periódico FASEB 15 (4) (2001) página A642 resumen 505,8 y en J. Nutrition 133 (6), 1845-1852 enseñan que la adición de fibras fermentables fomentan la colonización bacteriana y reduce el tiempo de recuperación y mejora la función intestinal en lechones tras la infección *Salmonella*.

Shoda *et al.* muestra en Gastroenterology 114 (4) (1998) A 908-A 909 que el suplemento oral de glutamina puede ayudar a prevenir la hipoglucemia en la enfermedad diarreica, incluso que no pueden usarse PUFAs n-3 para este objetivo.

Finalmente, Simpson apunta en The Journal of Nutrition, Diciembre 1998, Vol. 128 (12), 27 17S-2722S que niveles adecuados de fibra fermentable en la dieta protege frente a la colitis y también se refiere a “relaciones apropiadas de PUFAs (n-6):(n-3)”.

Hemos encontrado que una mezcla de ciertos materiales puede ocasionar la mejora de las principales señales de la inflamación GI tal como la diarrea. La frecuencia de las eliminaciones además de la calidad de la eliminación pueden mejorarse sustancialmente cuando se mejora la inflamación del tracto GI, particularmente en un animal doméstico de compañía tal como un gato, cuando se administran oralmente niveles apropiados de glutamina, fibra(s) fermentable(s), antioxidante(s) y ácidos grasos omega (n)-3 al mamífero.

Exposición del invento

Según el invento, hay una composición adecuada para la ingestión oral del mamífero en un mamífero con inflamación del tracto GI que comprende una cantidad eficaz anti-diarrea de al menos 0,1% en peso de glutamina, fibra(s) fermentable(s), antioxidante(s) y ácido(s) graso(s) omega-3.

Un aspecto adicional del invento es un método para manejar la diarrea en un mamífero con inflamación del tracto GI que comprende administrar oralmente al mamífero la composición descrita anteriormente.

Descripción detallada del invento

La glutamina es bien conocida como material que es importante para los linfocitos para proliferar e importante como nutriente para las células intestinales. La glutamina es también un precursor para el glutatión, un antioxidante natural en el cuerpo. Todo el % en peso descrito aquí para cualquier constituyente son en base de una dieta diaria para el mamífero. Todos los números se calculan en una base de materia seca.

La cantidad de glutamina es un mínimo de 0,1, 0,15 o 0,2% en peso. Lo máximo generalmente no excede de 5, 4 o 3% en peso.

ES 2 333 796 T3

Las fibras que pueden emplearse son las que son moderadamente fermentables, altamente fermentables o mezclas de las dos. Pueden añadirse también fibras bajas o no fermentables a bajos niveles sin repercutir en la formulación.

5 Hemos mostrado que ciertos ingredientes de fibra prebiótica cuando se fermentan por bacterias existentes del tracto
GI de perros y gatos producen altos niveles de butirato y otros ácidos grasos de cadena corta que acidificarían el tracto
GI y reducirían el crecimiento de patógenos. Las fibras prebióticas que producen altos niveles de butirato incluyen, pe-
ro no se limitan a manano-oligosacárido, pectina, xilooligosacárido, bardana, pulpa de remolacha, inulina, galactosa,
10 otros xilanos, fructanos, dextranos, beta glucano, almidones resistentes, polisacáridos de gomas, etc., deberían estar
presentes a niveles entre 0,5-20% en peso de la dieta con niveles preferidos entre 1-5% en peso. Las gomas pueden
incluir gomas producidas por microorganismos tales como goma gellan, xantana o gomas producidas por plantas tal
como la acacia. La mezcla se formula preferentemente basada en la alta producción de butirato y moderada fermenta-
bilidad basada en la producción de ácidos grasos volátiles (VFA) y en la desaparición de materia orgánica para ayudar
a mantener una salud GI óptima. La composición puede incluir al menos 10-60% de una fibra moderadamente fer-
mentable y 20-40% de una fibra altamente fermentable. Estas fibras deberían elegirse tal que la producción de butirato
15 de estas fibras es alta, entre 5-40% de la VFA total. Las fibras moderadamente fermentables se definen ya que tienen
una desaparición de materia orgánica de 15 a 60 por ciento cuando se fermentan por bacterias fecales *in vitro* durante
un periodo de 24 horas. Es decir, de 15 a 60 por ciento de la materia orgánica total presente originalmente se fermenta
y convierte por las bacterias fecales. Las fibras altamente fermentables tienen más de una velocidad de desaparición
del 60%.

20 Pueden emplearse también antioxidantes en las composiciones y métodos. Pueden emplearse vitaminas E, C y
mezclas de las mismas. Puede emplearse cualquier precursor de estas vitaminas, tales como acetato de tocoferilo y
ascorbato sódico. La vitamina B es un mínimo de 0,1, 0,2 o 0,4% en peso y generalmente no excede de un máximo de
3, 2 o 1% en peso de la dieta. La vitamina C es un mínimo de 0,1, 0,2 o 0,4% en peso y generalmente no excede de un
25 máximo de 3, 2 o 1% de la dieta.

Los ácidos grasos omega-3 son constituyentes alimenticios bien conocidos y se encuentran principalmente en grasas
y aceites, particularmente aceites de pescado tales como lachas, salmón y similares. Los constituyentes principales
del ácido graso omega-3 son el ácido ecosapentaenoico (EPA), ácido docosahexanoico (DHA) y ácido alfa-linolénico
30 (ALA). Las cantidades de ácidos grasos omega-3 son generalmente un mínimo de 0,1, 0,2 o 0,5% en peso y general-
mente no excede de un máximo de 3, 2 o 1% en peso. También están presentes generalmente en las grasas y aceites,
los ácidos grasos omega-6. La proporción de ácido graso omega-6 cuando está presente al ácido graso omega-3 en
base al peso es de 0,5:1 a 6:1, preferentemente 2:1 a 4:1.

35 Los siguientes ejemplos ilustran los beneficios a ser conseguidos usando la composición del invento manejando la
diarrea en un mamífero. El mamífero tiene o puede tener inflamación del tracto GI, preferentemente la enfermedad
del intestino inflamatorio.

40 Ejemplo 1

En el siguiente estudio, 12 gatos con enfermedad del intestino inflamatorio (IBD) se alimentaron con 2 variedades
de alimento durante un periodo de 2 semanas cada uno. Seis gatos se alimentaron con el Alimento A y 6 gatos se
alimentaron con el Alimento B durante 2 semanas, seguido por un cruce. La calidad de la deposición se monitorizó
45 diariamente y la puntuación se basó en una escala de 1-5, con 1 siendo fluida y acuosa y 5 siendo dura y formada,
véase la puntuación a continuación. Las deposiciones de los gatos con IBD son típicamente 1 o 2.

Puntuación de la monitorización de la deposición

- 50 1: acuosa
2: suave, no formada
3: suave, formada, húmeda
55 4: dura, formada, seca
5: dura, pelets secos

60 La Tabla 1 muestra el efecto de las dietas en la calidad de la deposición con diarrea crónica. La tabla muestra el
porcentaje de deposiciones con puntuaciones de 1-5. La primera lata de Alimento A contenía 3% de una fibra con baja
fermentabilidad, menos de 15% y la lata de Alimento B contenía 1,5% de una fibra con alta fermentabilidad, superior
a alrededor de 60% de fermentabilidad. El contenido de nutrientes de los alimentos se enumera a continuación.

65

ES 2 333 796 T3

	Alimento A	Alimento B
5	Alimento con fibra de baja fermentabilidad	Alimento con fibra de alta fermentabilidad
	72,69	72,58
10	8,24	7,94
	0,3	0,2
15	9,58	9,85

Resultados

20 Los resultados muestran que alimentando el Alimento B que contiene una fuente de fibra altamente fermentable mejoró la calidad de la deposición de los gatos que tienen un 42% de puntuación de las deposiciones de 1 y 2 a solo un 15% de puntuación de 1 y 2.

TABLA 1

	% de deposiciones	
	Alimento A	Alimento B*
30	Alimento de fibra de baja fermentabilidad	Alimento de fibra de alta fermentabilidad
35	11	2
	31	13
40	41	45
	10	22
45	7	14

* 4% de las deposiciones no estaban disponibles para la clasificación

Ejemplo 2

50 La Tabla 2 muestra los datos de un estudio en el que los mismos gatos que en el ejemplo 1 se alimentaron con 2 alimentos diferentes. Ambos alimentos contenían niveles similares de fibras prebióticas y ácidos grasos Omega-3. El Alimento C contenía glutamina y antioxidantes añadidos mientras que el Alimento D no contenía glutamina ni antioxidantes añadidos. La mitad de los gatos se alimentaron con el Alimento C durante 2 semanas y la otra mitad se alimentaron con el Alimento D. Esto fue seguido por un lavado de una semana para todos los gatos. Se cruzaron después al otro alimento durante 2 semanas adicionales. Los resultados en la Tabla 2 muestran que cuando los gatos se alimentaron con el Alimento C que incluía glutamina y antioxidantes altos, la calidad de la deposición se mejoró significativamente (0% de la puntuación de la deposición de 1 y 2) comparada con la calidad de la deposición cuando los gatos se alimentaron con el Alimento D, la dieta sin glutamina y antioxidantes añadidos (7% de la deposición con una puntuación de 1 y 2). El Alimento C tiene significativamente mejores resultados en la calidad de la deposición, 0% de las puntuaciones de la deposición de 1 y 2, comparada con el Alimento A que tiene 42% de su puntuación de la deposición de 1 y 2. El Alimento C es también significativamente mejor que el Alimento B que tiene un 15% de las puntuaciones de la deposición de 1 y 2. El Alimento C es también significativamente mejor que el Alimento D que tiene un 7% de las puntuaciones de la deposición de 1 y 2. El Alimento C tiene todos los componentes significativos de este invento: glutamina, antioxidante, fibra fermentable y ácidos grasos n-3. Todos los alimentos A, B y D perdieron al menos uno de estos componentes.

ES 2 333 796 T3

El contenido en nutrientes del alimento se enumera a continuación.

Fórmula	Todas las opciones (Alimento C)	Todas las opciones excepto glutamina y antioxidante (Alimento D)
% de humedad	75-76	75-76
% de proteína-Kjeldahl	10	10,1
% de fibra cruda	0,2	0,4
% de ceniza	1,49	1,69
% de grasa cruda	4-6	4-6
% de fibra insoluble	1-1,5	1-1,5
% de fibra soluble	0,1-0,3	0,1-0,3
Omega 3 (calc)	0,13	0,06
Omega 6 (calc)	1,51	0,46
Ácido ascórbico µg/g	30-50	4-10
Tocoferoles totales µg/ml	300-400	30-50

TABLA 2

Porcentaje de deposiciones

Puntuación de la calidad de la deposición	Alimento C (todas las opciones)	Alimento D (todas las opciones excepto glutamina y antioxidantes)
1	0	0
2	0	7
3	29	67
4	58	27
5	13	1

Los datos muestran que la dieta con glutamina y antioxidantes añadidos sigue sosteniendo la mejora en la calidad de la deposición en estos gatos.

Ejemplo 3

Los siguientes experimentos muestran que la fuente de glutamina que se usó en el ejemplo anterior está biodisponible y es capaz de estimular la función inmune. La glutamina es un nutriente importante para el tracto intestinal ya que es la principal fuente de combustible para los enterocitos y linfocitos. Una mayoría de la glutamina en la dieta se absorbe por las células del intestino además de por las células inmunes en el intestino.

ES 2 333 796 T3

5 En un experimento, se ensayó una fuente de glutamina para ver si estaba biodisponible y capaz de descargar la glutamina adecuada en las células intestinales. La fuente de glutamina era trigo hidrolizado con un enriquecimiento del 30% en glutamina. Se realizó un estudio de la respuesta de la dosis en 6 perros para ver si los niveles aumentados de la fuente de glutamina (0, 0,5, 1,0 y 2% de contenido en glutamina) se detectó en el plasma después de alimentar la dieta.

10 El cambio en la glutamina del plasma posprandial en las comidas de alimentación de animales se suplementó con diferentes niveles de glutamina.

TABLA 3

% de glutamina suplementada	% de cambio en la glutamina del plasma del control
0,5%	3
1,0%	10
2,0%	15

15 Los datos muestran que había una respuesta aumentada a los niveles aumentados de glutamina en la dieta, particularmente 30 minutos después de la comida. Esto muestra que la glutamina está disponible para la corriente sanguínea después de la extracción por las células intestinales.

20 En un experimento adicional, se examinó la eficacia de la glutamina como un inmuno-modulador. Se asignaron al azar 20 perros Beagle en 4 grupos que reciben tanto una dieta básica como una dieta básica suplementada con 1%, 2% o 4% de glutamina. Las muestras de sangre de los animales se sacaron en tubos heparinizados, 2 horas después de su última alimentación en el día 1 y 16. Se prepararon las muestras para medida inmunológica (ensayo de proliferación de células T).

25 Ensayo de proliferación de células T. Los leucocitos de la sangre periférica (PBL) en cada muestra se sangre se contaron usando Nova Celltrak II (Beckman Coulter Corp., FL). La sangre se diluyó (1:20) con un medio suplementado. La sangre diluída se puso en una placa, por triplicado, en placas de cultivo de células de 96 pocillos con los siguientes mitógenos diluídos en el medio suplementado: Concanavalina A (0,5 $\mu\text{g/ml}$ y 10 $\mu\text{g/ml}$), PWM (1,5 $\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$) y PHA (0,5 $\mu\text{g/ml}$, 2,5 $\mu\text{g/ml}$). Las placas se incubaron en un incubador humidificado que contiene 7% de CO_2 a 37°C durante 72 horas. El ADN celular era Ci/pocillo [etiquetado por pulsos 18 horas antes de recoger con ^3H] timidina. El ADN celular se recogió en un papel de fibra de vidrio usando un recogedor de células (Skatron Instruments Inc., VA) y se suspendió con 1,5 ml de cóctel de centelleo. La absorción de timidina [^3H] se cuantificó como cuentas por minuto (CPM) usando un Analizador Líquido de Centelleo TriCarb 2100 TR (Packard BioScience Company, IL). Las cuentas se normalizaron a CPM/10.000 células a contar por la variación en las concentraciones de PBL.

Efecto de la glutamina en la proliferación de linfocitos

30 La Concanvalina A (Con A) es un mitógeno de células T policlonales. En presencia del mitógeno Con A, el análisis total mostró un efecto significativo de la dieta, pero sin efecto de la dosis de Con A, o tratamiento dietético por la interacción de la dosis de Con A. Así, los datos se colapsaron a través de las diferentes dosis de Con A para mostrar la respuesta proliferativa de los linfocitos dependientes del porcentaje de glutamina suplementada en la dieta.

ES 2 333 796 T3

TABLA 4

Proliferación de linfocito de células T en la respuesta al mitógeno Con A

5

Alimento	Proliferación de células T (\log_{10} cpm)
Sin glutamina suplementada	4,7
1% de glutamina suplementaria	5
2% de glutamina suplementaria	4,8
4% de glutamina suplementaria	4,5

10

15

Hay un efecto principal significativo del tratamiento dietético ($P < 0,01$). El suplemento dietético del 1% de glutamina mostró una proliferación máxima de linfocitos que era significativamente diferente del grupo de control ($P < 0,05$). Los perros suministrados con 1% y 2% de glutamina mostraron aumentos similares en la proliferación de linfocitos. Hubo una diferencia significativa entre estos grupos y la respuesta proliferativa de los linfocitos de animales suplementados con 4% de glutamina en su dieta ($P < 0,01$). Esto indica que el suplemento con 1-2% de glutamina aumenta la proliferación de linfocitos T. Sin embargo, el 4% de glutamina no es beneficiosa adicionalmente a este respecto.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 333 796 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición conveniente para la ingestión oral de mamíferos en un mamífero con inflamación del tracto GI que comprende una cantidad eficaz anti-diarrea de al menos 0,1% en peso de glutamina, fibra(s) fermentable(s), antioxidante(s) y ácido(s) graso(s) omega-3.
2. La composición según la reivindicación 1, en la que el mamífero es un perro o un gato.
- 10 3. La composición según la reivindicación 2, en la que la composición se administra en la dieta del perro o del gato.
4. La composición según la reivindicación 3, en la que la glutamina es 0,1 a 5% en peso de la dieta.
- 15 5. La composición según las reivindicaciones 3 o 4, en la que la(s) fibra(s) fermentable(s) es 0,5 a 20% en peso de la dieta.
6. La composición según las reivindicaciones 3 o 4 o 5, en la que el(los) antioxidante(s) es 0,1 a 3% en peso de la dieta.
- 20 7. La composición según las reivindicaciones 3 o 4 o 5 o 6, en la que el(los) ácido(s) graso(s) omega-3 es 0,1 a 3% en peso de la dieta.
- 25 8. El uso de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para la fabricación de una dieta administrable oralmente para manejar la diarrea en un mamífero que tiene inflamación del tracto GI.

30

35

40

45

50

55

60

65