

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 379 810**

51 Int. Cl.:
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06806182 .9**
96 Fecha de presentación: **11.10.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1937232**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.07.2008**

54 Título: **Composiciones nutracéuticas para el tratamiento de la atrofia muscular**

30 Prioridad:
14.10.2005 EP 05022414
15.05.2006 EP 06009943

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.05.2012

73 Titular/es:
DSM IP ASSETS B.V.
HET OVERLOON 1
6411 TE HEERLEN, NL

72 Inventor/es:
RAEDERSTORFF, Daniel;
WANG-SCHMIDT, Ying y
WOLFRAM, Swen

74 Agente/Representante:
Lehmann Novo, Isabel

ES 2 379 810 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

Composiciones nutraceuticas para el tratamiento de la atrofia muscular

5 La presente invención se refiere a un nuevo uso de composiciones nutraceuticas que comprenden, en calidad de ingrediente activo, EGCG y resveratrol

10 Las composiciones de la presente invención están particularmente destinadas para la prevención y el tratamiento de la atrofia muscular que conduce a la pérdida muscular, la atrofia y otros trastornos musculares asociados en animales, en particular en mamíferos, incluidos seres humanos.

15 El término "nutracéutico", tal como se utiliza en esta memoria, designa la utilidad tanto en el campo de aplicación nutricional como farmacéutico. Así, las nuevas composiciones nutraceuticas pueden encontrar uso como suplementos a alimentos y bebidas, suplementos dietéticos y como formulaciones farmacéuticas para la aplicación enteral o parenteral que pueden ser formulaciones sólidas tales como cápsulas o comprimidos, o formulaciones líquidas tales como disoluciones o suspensiones. Como resultará evidente a partir de lo que antecede, la expresión "composición nutraceutica" comprende también alimentos y bebidas que contienen los ingredientes activos arriba especificados.

20 El término "EGCG" se utiliza para galato de (-)-epigallocatequina. EGCG es la catequina principal encontrada en el té verde. Los efectos beneficiosos para la salud del té verde han sido atribuidos principalmente a las catequinas. En ratones, las catequinas del té reducían la ganancia de peso inducida por la dieta, la masa grasa visceral, así como los niveles de leptina, triglicéridos y glucosa en el plasma. Se sabe también que las catequinas del té aumentan el gasto de energía en ratas. En seres humanos, las catequinas del té han demostrado reducir el peso corporal, la masa grasa visceral y los niveles de colesterol, insulina y glucosa en el plasma. El extracto de té verde ha demostrado aumentar significativamente el gasto energético y la oxidación de grasas en personas sanas. Además, se demostró en el tejido adiposo pardo de ratas que EGCG estimula la actividad metabólica y el consumo de oxígeno. Adicionalmente, varios estudios con animales demostraron que las catequinas inhibían la absorción de colesterol y reducían los niveles de colesterol en el plasma. A su vez, las epicatequinas aumentan la excreción fecal de colesterol y lípidos totales. Por lo tanto, EGCG tiene un efecto anti-obesidad a través de la estimulación de termogénesis y/o de una absorción alterada de las grasas.

25 El efecto de la suplementación con extracto de té verde dietético para proteger el músculo EDL (elongator digitorum longus) en el modelo de distrofia en ratón *mdx* se describe en Buettler et al., Am. J. Clin. Nutr. 75:749, 2002.
35 La utilidad de resveratrol para el tratamiento de la atrofia muscular en caquexia de cáncer es sugerida en Wyke et al., Br. J. Cancer 91:1742, 2004.

40 Hidroxitirosol está en forma de un compuesto individual o de un extracto vegetal purificado, especialmente un extracto de aceituna. Hidroxitirosol es el polifenol principal encontrado en las aceitunas. Se piensa que hidroxitirosol es el antioxidante con la más elevada capacidad de depuración de radicales libres: doble de la quercetina y más de 3 veces la de epicatequina. Las aguas residuales generadas durante el procesamiento de las aceitunas contienen elevados niveles de hidroxitirosol, de las cuales se puede recuperar el hidroxitirosol para producir extractos de hidroxitirosol. Hidroxitirosol tiene las mismas propiedades fomentadoras de la salud que otros polifenoles: prevención de aterosclerosis, fomento de la salud intestinal y respiratoria y prevención de cáncer. El hidroxitirosol reduce también el estrés oxidativo provocado por fumar.

45 La atrofia muscular se caracteriza por una pérdida progresiva de la masa muscular, debilitando y degenerando los músculos, especialmente los músculos del esqueleto o voluntarios y los músculos cardíacos.

50 Los procesos mediante los cuales se produce una atrofia e hipertrofia están conservados a través de las especies de mamíferos. Múltiples estudios han demostrado que durante la atrofia, tanto en roedores como en seres humanos, se producen los mismos procesos moleculares, celulares y fisiológicos básicos. Así, modelos con roedores de la atrofia de los músculos del esqueleto han sido utilizados con éxito para entender y predecir respuestas de la atrofia humana.

55 La atrofia muscular es debida a una diversidad de causas y está asociada con diversas patologías, dolencias y enfermedades. Éstas incluyen, pero no se limitan a distrofias musculares provocadas por trastornos genéticos tales como la distrofia muscular de Duchenne, la distrofia muscular progresiva, la distrofia muscular de tipo Becker, la distrofia muscular de Dejerine-Landouzy, la distrofia muscular de Erb y la distrofia muscular neuroaxonal infantil. Las distrofias musculares también surgen de enfermedades crónicas y de la edad. A medida que el cuerpo envejece, una proporción creciente de músculo esquelético es reemplazado por tejido fibroso. Por lo tanto, el envejecimiento normal en seres humanos está asociado con una disminución progresiva en la masa y resistencia del músculo

esquelético, un estado conocido como sarcopenia, que contribuye a debilidad y caídas.

5 Además de ello, trastornos relacionados con la edad tales como hipertensión, intolerancia a la glucosa y diabetes, obesidad, dislipidemia, enfermedad aterosclerótica y cardiovascular están también asociados con la pérdida de masa muscular.

10 Además, otros estados tales como cáncer, enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas, infección por VIH, SIDA, inflamación crónica, artritis, malnutrición, enfermedades renales, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), enfisema, osteomalacia, lumbalgia crónica, lesión del nervio periférico, lesión de la médula espinal, lesión química, lesión del sistema nervioso central (SNC) están ligados a o pueden provocar una atrofia muscular. Finalmente, estados que resultan en una atrofia muscular pueden surgir de estados de mal uso tal como inmovilización durante largo tiempo debido a enfermedad o discapacidad tal como confinamiento en una silla de ruedas, reposo prolongado en la cama, fractura de huesos o trauma. Se estima que el reposo en cama después de la cirugía provoca pérdidas de la masa muscular esquelética de aproximadamente 10% por semana.

15 Trastornos de atrofia muscular no tratados pueden tener graves consecuencias en la salud.

Los cambios que se producen durante la atrofia muscular pueden conducir a un estado físico debilitado que resulta en un comportamiento deficiente del cuerpo y en efectos para la salud perjudiciales.

20 Así, la atrofia muscular puede limitar seriamente la rehabilitación de pacientes que han estado inmovilizados. Atrofia muscular debida a enfermedades crónicas puede conducir a una pérdida prematura de la movilidad y aumentar el riesgo de morbilidad relacionada con la enfermedad. La atrofia muscular debida al mal uso es especialmente un serio problema en personas de edad, quienes ya han padecido déficits en la función y masa muscular relacionados con la edad que conducen a una discapacidad permanente y a una muerte prematura, así como a una tasa incrementada de fractura de huesos. A pesar de la importancia clínica de la afección, existen unos pocos tratamientos para evitar o invertir dicha afección.

30 Se ha encontrado ahora, sorprendentemente, que composiciones que contienen como ingrediente activo EGCG y resveratrol son útiles para la prevención y el tratamiento de la atrofia muscular que conduce a la pérdida y atrofia del músculo y a trastornos musculares asociados en animales, en particular mamíferos, incluidos seres humanos.

35 En una realización específica de la presente invención, las composiciones nutracéuticas, además del o de los ingredientes activos arriba definidos, contienen al menos un carotenoide del grupo que consiste en β -caroteno, luteína, zeaxantina, licopeno y β -criptoxantina.

40 Grupos de animales de particular interés, aparte de mamíferos y seres humanos, en relación con la presente invención son, p. ej., animales domésticos o mascotas tales como caballos, camellos, dromedarios, perros, gatos y aves, y animales mantenidos en zoológicos. Animales domésticos, mascotas y animales de zoológicos recibirán los ingredientes activos preferiblemente a través de su alimentación, p. ej. a través de piensos para mascotas, incluida su agua para beber.

45 Además de ello, se ha encontrado que las presentes composiciones actúan sobre diferentes vías críticas implicadas en el proceso de la pérdida muscular. Las composiciones de la presente invención aumentan la masa muscular magra y la resistencia muscular en modelos con animales.

50 Por lo tanto, la presente invención proporciona composiciones para tratar trastornos de atrofia muscular que incluyen, por ejemplo, distrofia muscular, atrofia muscular debida a cáncer, SIDA, artritis reumatoide, insuficiencia renal, uremia, insuficiencia cardíaca crónica, sarcopenia relacionada con la edad, reposo en cama prolongado, lesión de médula espinal, apoplejía, fractura de huesos.

55 Las composiciones de la invención comprenden una combinación de EGCG y resveratrol. Además, a las composiciones nutracéuticas de la presente invención se puede añadir un suplemento de múltiples vitaminas y minerales para obtener una cantidad adecuada de nutrientes esenciales, los cuales no aparecen en algunas dietas. El suplemento de múltiples vitaminas y minerales también puede ser útil para la prevención de la enfermedad y la protección frente a pérdidas nutricionales y deficiencias debidas a modelos de estilo de vida.

60 Las composiciones nutracéuticas de la presente invención contienen resveratrol en una cantidad suficiente para proporcionar a un adulto humano (que pese aproximadamente 70 kg) una dosis de aproximadamente 0,5 mg/día a aproximadamente 2000 mg/día, preferiblemente de aproximadamente 5 mg/día a aproximadamente 500 mg/día. Así, si la composición nutracéutica es un alimento o bebida, la cantidad de resveratrol contenida en el mismo está adecuadamente en el intervalo de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 500 mg por ración. Si la

composición nutracéutica es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 500 mg por cada unidad de dosificación sólida, p. ej., por cada cápsula o comprimido, o de aproximadamente 0,5 mg por dosis diaria a aproximadamente 2000 mg por dosis diaria de una formulación líquida. EGCG se utiliza preferiblemente en una concentración tal que el consumo diario por un adulto humano (que pese aproximadamente 70 kg) está en el intervalo de 10 mg/día a 2000 mg/día. Un alimento o bebida contiene de manera adecuada aproximadamente 2 mg a aproximadamente 500 mg de EGCG por ración. Si la composición nutracéutica es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener EGCG en una cantidad de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 500 mg por unidad de dosificación, p. ej. por cada cápsula o comprimido, o de aproximadamente 10 mg por dosis diaria a aproximadamente 2000 mg por diaria de una formulación líquida.

Además de EGCG, las composiciones pueden contener hidroxitirosol. La cantidad de hidroxitirosol en esta composición puede ser tal que proporcione una dosificación diaria de aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 60 mg por kg de peso corporal del sujeto al que se ha de administrar. Un alimento o bebida contiene de manera adecuada aproximadamente 0,3 mg por ración a aproximadamente 1250 mg por ración de hidroxitirosol. Si la composición nutracéutica es una formulación farmacéutica, dicha formulación puede contener hidroxitirosol en una cantidad de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 4000 mg por unidad de dosificación, p. ej., por cada cápsula o comprimido, o de aproximadamente 1 mg por cada dosis diaria a aproximadamente 4000 mg por cada dosis diaria de una formulación líquida.

En el caso de carotenoides del grupo consistente en β -caroteno, luteína, zeaxantina, licopeno y β -criptoxantina, dicho carotenoide se utiliza preferiblemente en una concentración tal que el consumo diario por un animal, incluidos seres humanos (p. ej., que pesen aproximadamente 70 kg) está en el intervalo de 0,05 mg/día a 50 mg/día (correspondiente a una dosis diaria de aproximadamente 0,0007 a aproximadamente 0,7 mg/kg de peso corporal), más preferiblemente de 0,5 mg/día a 30 mg/día. Una composición nutracéutica comprende preferiblemente 0,05 mg a 50 mg del carotenoide por ración. Si la composición es una composición farmacéutica, dicha composición puede comprender preferiblemente el carotenoide en una cantidad de 0,5 mg a 50 mg por unidad de dosis, p. ej. por cada cápsula o comprimido, o una unidad de formulación líquida.

El término "ración", tal como se utiliza en esta memoria, designa una cantidad de alimento o bebida ingerida normalmente por un adulto humano en una comida, de una vez, y puede oscilar, p. ej., de aproximadamente 100 g a aproximadamente 500 g.

Los ingredientes activos de la composición arriba definida tienen diferentes mecanismos de acción, proporcionando así efectos sinérgicos para prevenir la pérdida y atrofia muscular y los trastornos musculares asociados en mamíferos, en particular seres humanos.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención adicionalmente.

Ejemplo 1

La eficacia de resveratrol, EGCG así como de la combinación de los dos compuestos sobre la masa muscular se sometió a ensayo en un estudio de alimentación durante 3 meses en ratones de C57BLKS/J db/db (n = 20/grupo). Ratones C57BLKS/J db/db padecen un grave trastorno metabólico debido a un defecto en el receptor de leptina y pérdida de la masa muscular a medida que envejecen. La atrofia muscular ha sido asociada con desequilibrios metabólicos crónicos. Además de ello, la atrofia muscular inducida por una diversidad de medios tanto en roedores como en seres humanos resulta en cambios similares en la anatomía del músculo, el área en sección transversal, la función, la conexión con el tipo de fibra, la expresión de proteínas contráctiles y la histología. Además, se ha demostrado que varios agentes regulan la atrofia del músculo esquelético tanto en roedores como en seres humanos. Estos agentes incluyen esteroides anabólicos, hormona del crecimiento, factor de crecimiento similar a la insulina 1 y agonistas beta-adrenérgicos. Los datos demostraron que la atrofia del músculo esquelético resulta de mecanismos comunes tanto en roedores como en seres humanos. Por lo tanto, el modelo de roedor se puede utilizar para evaluar la eficacia de compuestos que inhiben la atrofia muscular.

Ratones db/db machos se obtuvieron de Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE.UU.). En el experimento se utilizaron ratones adultos de 8 semanas de edad. Los ratones fueron alojados individualmente en jaulas de plástico con camas y se les permitió un libre acceso a pienso estándar para roedores y a agua del grifo. Los recintos de los animales fueron controlados en cuanto a temperatura (24°C), humedad (55%) y luz (ciclo de luz-oscuridad de 12 h). A los animales se les distribuyó aleatoriamente en cuatro grupos. Resveratrol y EGCG fueron administrados como una mezcla agregada al pienso. Celulosa de maíz (1% de dieta) servía como una sustancia de soporte para resveratrol y EGCG, así como un placebo cuando se utilizaba sola. El grupo 1 recibió placebo, el grupo 2 recibió una dieta que contenía 0,08% de resveratrol; el grupo 3 recibió una dieta que contenía 0,08% de EGCG; y el grupo 4

recibió una dieta que contenía 0,08% de resveratrol y 0,08% de EGCG. El peso corporal y la ingesta de alimentos se determinaron a lo largo del curso del estudio. La masa muscular total se determinó mediante medición por resonancia magnética nuclear (RMN) después de 3 meses de tratamiento. No existía diferencia alguna en la ingesta de alimentos entre los grupos a lo largo del período de estudio.

5

En la Tabla 1 se muestra el peso corporal y el peso del tejido muscular para cada uno de los grupos de tratamiento.

Tabla 1: Peso corporal (PC), masa muscular y cambio desde la línea base en ratones db/db después de 3 meses de tratamiento

| | Ratones de 2 meses de edad | | Ratones de 5 meses de edad | | Cambio desde la línea base | |
|---------------------------------------|----------------------------|-------------|----------------------------|-------------|----------------------------|-------------|
| | PC (g) | Músculo (g) | PC (g) | Músculo (g) | PC (g) | Músculo (g) |
| Control | 30,2 | 16,0 | 30,7 | 15,7 | 0,5 | -0,3 |
| Resveratrol 0,08% | 30,3 | 16,0 | 34,2 | 17,0 | 3,9 | 1,0 |
| EGCG 0,08% | 30,4 | 15,7 | 31,4 | 16,2 | 1,0 | 0,5 |
| Resveratrol 0,08% + EGCG 0,08% | 30,4 | 16,0 | 35,7 | 17,4 | 5,3 | 1,4 |

10

En animales no tratados (control), la masa muscular se reduce en un 2%. Por el contrario, en el grupo de resveratrol, EGCG y el resveratrol + EGCG, la masa muscular se incrementa en 6,3 y 9%, respectivamente. Así, la administración de resveratrol, EGCG y la combinación de los dos previene la pérdida muscular en los ratones. La combinación de resveratrol y EGCG aumentaba significativamente la masa muscular, y era más potente que cualquiera de los compuestos individuales solo.

15

Ejemplo 2: Composiciones farmacéuticas (se pueden preparar por procesos de formulación convencionales utilizando los ingredientes especificados abajo)

20 Cápsula de gelatina blanda (no reivindicada)

Cápsulas de gelatina blanda se preparan por procesos convencionales utilizando ingredientes especificados a continuación:

Ingredientes activos: resveratrol 10 mg y vitamina E 50 mg

25 Otros ingredientes: glicerol, agua, gelatina, aceite vegetal.

Cápsula de gelatina dura

30 Cápsulas de gelatina dura se preparan por procesos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Ingredientes activos: resveratrol 5 mg, EGCG 100 mg, genisteína 5 mg, vitamina E 50 mg, vitamina K 1 mg

Otros ingredientes: cargas: lactosa o celulosa o derivados de celulosa, lubricante: estearato de magnesio, si es necesario (al 0,5%).

35 Comprimido

Los comprimidos se preparan por procesos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Ingredientes activos: resveratrol 5 mg, EGCG 50 mg, vitamina E 20 mg,

Otros ingredientes: celulosa microcristalina, dióxido de silicio (SiO₂), estearato de magnesio, croscarmelosa sódica.

40

Ejemplo 3: Productos alimenticios que se pueden preparar por procesos convencionales utilizando los ingredientes especificados a continuación:

Una bebida sin alcohol que contiene resveratrol, EGCG e hidroxitirosol se puede preparar como sigue:

45

| <u>1.1. Concentrados de zumo y sabores solubles en agua</u> | [g] |
|---|--------|
| Concentrado de naranja | |
| 60,3° Brix, acidez de 5,15% | 657,99 |
| Concentrado de limón | |
| 43,5° Brix, acidez de 32,7% | 95,96 |
| Sabor de naranja, soluble en agua | 3,43 |
| Sabor de albaricoque, soluble en agua | 6,71 |
| Agua | 26,46 |

50

ES 2 379 810 T3

| | | |
|----|---|-------|
| | <u>1.2 Color</u> | |
| | β-caroteno CWS al 10% | 0,89 |
| | Agua | 67,65 |
| 5 | <u>1.3 Ácido y antioxidante</u> | |
| | Ácido ascórbico | 4,11 |
| | Ácido cítrico anhidro | 0,69 |
| | Agua | 43,18 |
| 10 | <u>1.4 Estabilizadores</u> | |
| | Pectina | 0,20 |
| | Benzoato sódico | 2,74 |
| | Agua | 65,60 |
| 15 | <u>1.5 Sabores solubles en aceite</u> | |
| | Sabor de naranja, soluble en aceite | 0,34 |
| | Aceite de naranja destilado | 0,34 |
| 20 | <u>1.6 Ingrediente activo</u> | |
| | Resveratrol, EGCG e hidroxitirosol en cantidades que proporcionan 5 mg de resveratrol / por ración, 10 mg de EGCG / por ración y 5 mg de hidroxitirosol / por ración. | |

25 Concentrados de zumos de frutas y sabores solubles en agua se mezclan sin incorporación de aire. El colorante se disuelve en agua desionizada. Ácido ascórbico y ácido cítrico se disuelven en agua. Benzoato sódico se disuelve en agua. La pectina se añade con agitación y se disuelve al tiempo que hierve. La disolución se enfría. El aceite de naranja y los sabores solubles en aceite se mezclan previamente. El ingrediente activo tal como se menciona en 1.6 se agita en la mezcla de concentrado de zumo de frutas (1.1).

Con el fin de preparar la bebida no alcohólica, mezclar todas las partes. 1.1 a 1.6 se mezclan juntos antes de la homogeneización utilizando un Turrax y luego un homogeneizador a alta presión ($p_1 = 200$ bar, $p_2 = 50$ bar).

REIVINDICACIONES

- 5 1.- El uso de resveratrol en combinación con EGCG en la fabricación de composiciones nutraceuticas para la prevención y el tratamiento de la atrofia muscular que conduce a pérdida muscular, atrofia y otros trastornos musculares asociados en animales, en particular mamíferos, incluidos seres humanos.
- 2.- El uso según la reivindicación 1, en donde las composiciones nutraceuticas contienen, además, al menos un carotenoide del grupo que consiste en β -caroteno, luteína, zeaxantina, licopeno y β -criptoxantina.
- 10 3.- El uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde dicho resveratrol se utiliza en una cantidad suficiente para proporcionar una dosis diaria de 0,03 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal al sujeto al que se ha de administrar, y dicho EGCG se utiliza en una cantidad suficiente para proporcionar una dosis diaria de 0,1 mg por kg de peso corporal a aproximadamente 20 mg por kg de peso corporal del sujeto al que se ha de administrar.
- 15 4.- El uso según la reivindicación 2, en donde dicho carotenoide se utiliza en una cantidad suficiente para proporcionar una dosis diaria de 0,0007 a 0,7 mg por kg de peso corporal del sujeto al que se ha de administrar.
- 20 5.- El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición nutraceutica es un alimento o bebida o una composición de suplemento para alimentos o bebidas.
- 6.- El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición nutraceutica es una composición farmacéutica.