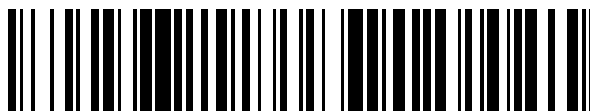


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 691**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)
A23K 1/16 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A23L 2/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2008 E 08845900 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.10.2013 EP 2210609**

54 Título: **Agente para promover la secreción de adiponectina y/o inhibir la disminución en la secreción de adiponectina**

30 Prioridad:

29.10.2007 JP 2007280195

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

17.12.2013

73 Titular/es:

**MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD. (100.0%)
1-1, Naebocho 6-chome, Higashi-ku
Sapporo-shi, Hokkaido 0650043, JP**

72 Inventor/es:

**KUNIEDA, YUKIKO;
SETO, YASUYUKI y
KADOOKA, YUKIO**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 434 691 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

Agente para promover la secreción de adiponectina y/o inhibir la disminución en la secreción de adiponectina

5 Campo técnico

5 [0001] La presente invención se refiere a un agente que promueve la secreción de y/o suprime la disminución de adiponectina contenida en el sobrenadante del cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) como
10 ingrediente activo, a un nuevo producto alimenticio o bebida novedosos que tiene el efecto de promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina, y un pienso novedoso que tiene el efecto de promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina. La ingesta del agente para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de la presente descripción puede promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de los tejidos grasos. Se cree que la disminución en la secreción de adiponectina causa/agrava el síndrome metabólico en el que se producen a la vez varias afecciones tales como hipertensión, hiperlipidemia y
15 diabetes, y las composiciones descritas en este documento son útiles para su prevención y tratamiento.

Técnica anterior

20 [0002] La hipertrofia de las células adiposas y la acumulación excesiva de grasa visceral pueden causar la aparición concurrente de múltiples estados de enfermedad tales como hipertensión, hiperlipidemia y diabetes. Estos estados de enfermedad se conocen colectivamente como síndrome metabólico, que se está convirtiendo en los últimos años en un importante problema nacional de salud para el que se necesitan con urgencia medidas. Los tejidos adiposos viscerales secretan factores endocrinos tales como adiponectina, inhibidor del activador del plasminógeno, factor de necrosis tumoral (TNF- α) y leptina, y contribuyen al mantenimiento de la homeostasis en el organismo. Sin embargo,
25 la hipertrofia de las células adiposas provoca anomalías en la secreción de estos factores, lo que da como resultado una secreción excesiva o deficiente. Cada vez está más claro a partir de estudios recientes que esta pérdida de equilibrio secretor está profundamente involucrada en la aparición y el agravamiento del síndrome metabólico. Se cree que las anomalías en la secreción de adiponectina, en particular, tienen la influencia más profunda (véase, por ejemplo, el Documento No de Patente 1).

30 [0003] La adiponectina es una molécula que consiste en 244 aminoácidos, y se secreta a partir de los tejidos adiposos. Se ha demostrado que la adiponectina tiene el efecto de mejorar la resistencia a la insulina, así como el efecto de promover la quema de grasa en el hígado y los músculos. También se ha encontrado que la adiponectina estimula la captación de glucosa y ácidos grasos de la sangre a las células. La acumulación de grasa en los
35 músculos o en el hígado u otros órganos da como resultado la absorción de azúcar ineficaz y puede conducir a la diabetes. Normalmente, sin embargo, la adiponectina parece facilitar el mantenimiento del equilibrio nutricional en el organismo rompiendo la grasa y los azúcares que se han vuelto temporalmente excesivos. Se cree que las células adiposas que secretan adiponectina se vuelven menos activas a medida que progresa la obesidad, y esto conduce a la pérdida del equilibrio nutricional en el organismo. Por lo tanto, se espera que una amplia gama de afecciones del síndrome metabólico, tales como la hipertensión, el metabolismo anómalo de los lípidos y la diabetes, se puedan mejorar al mismo tiempo mediante la normalización de la secreción de adiponectina.

40 [0004] Se han buscado fármacos y compuestos artificiales que puedan aumentar los niveles de adiponectina, pero a la luz del riesgo de los efectos secundarios potenciales asociados con estos fármacos y compuestos artificiales, se ha dirigido mucha atención hacia los estudios de los componentes de los alimentos que pueden, como mínimo, frenar el avance de las enfermedades a través de la dieta diaria. Se han descrito una serie de extractos de plantas, tales como extractos de manzana (por ejemplo, véase el Documento de Patente 1), extractos de brácteas de lúpulo (por ejemplo, véase el Documento de Patente 2), catequinas de té verde (por ejemplo, véase el Documento de Patente 3), extractos de salvado de arroz (por ejemplo, véase el Documento de Patente 4), y extractos de bulbo de cúrcuma (por ejemplo, véase el Documento de Patente 5), como sustancias que pueden mejorar la concentración de adiponectina en sangre. Sin embargo, que sean prácticos como material para la fabricación de productos farmacéuticos o para alimentos/bebidas es cuestionable, ya que pueden requerir condiciones de extracción complicadas, rara vez utilizan materias primas disponibles para la extracción, o tienen efectos no deseados sobre el sabor de la comida a la cual se añaden.
55

[0005] Por otro lado, los productos alimenticios elaborados mediante el uso de fermentación por bacterias de ácido láctico son diversos (los ejemplos incluyen quesos, yogures y encurtidos), pueden ser proporcionados de forma relativamente poco costosa, y han sido producidos en todo el mundo en grandes cantidades a lo largo de la historia debido a sus gustos cautivadores. Las bacterias lácticas, por medio de la fermentación, producen numerosos productos de descomposición y metabolitos, entre los que se están identificando una serie de componentes de alimentos funcionales sanos, pero se cree que las funciones de muchos de ellos aún no se han entendido. Los autores de la presente invención descubrieron que los péptidos derivados de las proteínas de la leche aisladas de los quesos que habían sido envejecidos con bacterias de ácido láctico tenían los efectos de promover la producción de adiponectina (por ejemplo, véase el Documento de Patente 6).
60

5 [0006] Se sabe que *Lactobacillus gasseri* proporciona efectos contra las infecciones patogénicas (por ejemplo, véase el Documento de Patente 7), efectos de prevención de la enfermedad inflamatoria intestinal y del síndrome del intestino irritable (por ejemplo, véase el Documento de Patente 8), efectos de inhibición de la resorción ósea (por ejemplo, véase el Documento de Patente 9), efectos de potenciación del sistema inmunitario (por ejemplo, véase el Documento de Patente 10), así como efectos de prevención de complicaciones asociadas con la diabetes (por ejemplo, véase el Documento de Patente 11) y efectos de inhibición del aumento de niveles de colesterol en suero (por ejemplo, véase el Documento de Patente 12). El documento JP 2007 153741A ilustra el uso de bacterias cosechadas de un cultivo y/o células microbianas de *Lactobacillus gasseri* SBT 20055 como inhibidor de la acumulación de grasa alrededor de los riñones y para el tratamiento de síndrome metabólico. Sin embargo, nunca se ha sabido que un sobrenadante de cultivo (es decir, el componente líquido que queda después de que los productos precipitados de la proteína de la leche y los componentes de las células bacterianas hayan sido eliminados de un cultivo bacteriano) de *Lactobacillus gasseri* o cualquier otro tipo de bacteria de láctica tenga, por sí mismo, el efecto de aumentar el nivel de adiponectina.

15 [0007] Los productos precipitados de la proteína de la leche y los componentes de las células bacterianas que han sido coagulados en el proceso de fermentación afectan en gran medida a los sabores de los productos lácteos, y a veces pueden deteriorar la calidad de los productos y dañar sus valores comerciales. También se están desarrollando tecnologías para la eliminación de los productos precipitados de la mezcla de fermentación de la leche (por ejemplo, véase el Documento de Patente 13), y los sobrenadantes de cultivo de la fermentación de la leche que podrían proporcionar sabores deseables y gustos fascinantes a los productos alimenticios ofrecen una aplicabilidad industrial extremadamente alta.

20 Documento de Patente 1: JP 2006-193502 A; Documento de Patente 2: JP 2006-193501 A
Documento de Patente 3: JP 2006-131512 A; Documento de Patente 4: JP 2005-68132 A
Documento de Patente 5: JP 2005-60308 A; Documento de Patente 6: JP 2007-254448 A
25 Documento de Patente 7: JP H08-268899 A; Documento de Patente 8: JP 2003-95963 A
Documento de Patente 9: JP 2004-315477 A; Documento de Patente 10: JP 2006-69993 A
Documento de Patente 11: JP 2003-252770 A; Documento de Patente 12: JP 2003-306436 A
Documento de Patente 13: JP H06-319447 A;
Documento no de Patente 1: J. Clin. Invest., 116:1784-1792

30 **Compendio de la invención**

Problemas a resolver por la invención

35 [0008] El objetivo de la presente invención es proporcionar un sobrenadante de cultivo de bacterias de ácido láctico que tiene una excelente aplicabilidad y utilidad general como material de producto alimenticio y al mismo tiempo es eficaz en la prevención y el tratamiento del síndrome metabólico debido a su efecto de promoción de la secreción de adiponectina en el organismo.

40 **Medios de resolver el problema**

45 [0009] Los autores de la presente invención han llevado a cabo extensos estudios para lograr el objetivo anterior, y como resultado, descubrieron que el sobrenadante del cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) muestra efectos extremadamente fuertes de promoción de la secreción de y/o supresión de la disminución de adiponectina, que ha conducido a la realización de la presente invención.

50 [0010] Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición que comprende un sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) como ingrediente activo para su uso en el tratamiento o prevención de la hipertensión, la hiperlipidemia, la diabetes mellitus de tipo 2, la obesidad abdominal, la dislipidemia, la resistencia a la insulina o el síndrome metabólico. La composición de la presente invención puede estar en forma de un medicamento, un producto alimenticio o bebida o un pienso para animales.

Efectos de la invención

55 [0011] Las composiciones de acuerdo con la presente invención son eficaces en la prevención y el tratamiento del síndrome metabólico que se cree que está causado por la disminución de los niveles de adiponectina en la sangre. Además, dado que las composiciones de acuerdo con la presente invención utilizan el sobrenadante del cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), éstas se caracterizan por una excelente aplicabilidad y utilidad general como materiales de alta pureza para productos alimenticios, se pueden proporcionar de forma relativamente económica en grandes cantidades, y también destacan por ser muy seguras.

60

Breve descripción de los dibujos**[0012]**

[Figura 1]

5 Esta figura muestra los resultados de las mediciones de las concentraciones de adiponectina. (Ejemplo de Ensayo 1)

Descripción de las realizaciones

10 **[0013]** Los autores de la presente invención han buscado, entre muchas bacterias del ácido láctico derivadas de leche fermentada o del organismo humano, para determinar cepas bacterianas que podrían proporcionar los efectos de mejorar la diabetes o reducir los niveles de colesterol en sangre y también proporcionar sabores y texturas adecuadas en las aplicaciones de productos alimenticios. La búsqueda se continuó con un criterio adicional, es decir, se requirieron cepas bacterianas diana para producir los sobrenadantes de cultivo que mostraran los efectos de promoción de la secreción de y/o de supresión de la disminución de adiponectina. A partir de esta búsqueda, se ha seleccionado la cepa SBT2055 de *Lactobacillus gasseri*. Esta cepa bacteriana ha sido depositada en el Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industrial Avanzada del Depósito de Microorganismos a los fines del procedimiento de Patentes bajo el número de depósito FERM BP-10953.

20 **[0014]** Nunca se supo que el sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), del que se habían eliminado los componentes de las células bacterianas, tuviera por sí mismo el efecto de promover la secreción y/o de suprimir la disminución de adiponectina, y este hecho ha sido puesto de manifiesto por primera vez por los autores de la presente invención.

25 **[0015]** A continuación, se describirá el método de cultivo de estas bacterias de ácido láctico. Se pueden utilizar diferentes medios de cultivo, tales como medio lácteo, medios que contienen componentes de la leche, y medios semi-sintéticos que no contienen los componentes de la leche, pero son especialmente preferibles los medios que contienen polvo de suero de leche como componente complementario de la leche. Las bacterias se cultivan normalmente en cultivo estacionario o en un cultivo neutro en el que el pH se mantiene dentro de un cierto intervalo, pero se puede utilizar cualquiera de los métodos y condiciones de cultivo que sean favorables para el crecimiento de las bacterias. El sobrenadante del cultivo se puede obtener mediante la eliminación de los productos precipitados de la proteína de la leche y los componentes de las células bacterianas del cultivo bacteriano descrito anteriormente, por medio de métodos apropiados, tales como la centrifugación y la filtración.

35 **[0016]** El sobrenadante del cultivo obtenido anteriormente constituye un ingrediente activo en las composiciones de acuerdo con la presente invención. El sobrenadante se puede usar directamente, o se puede secar en un polvo antes de utilizarlo como ingrediente activo. Se pueden utilizar cualquier método de secado, pero es preferible la liofilización debido a que puede suprimir la degradación de los componentes. El polvo se puede mezclar con excipientes apropiados, tales como lactosa y formularse en diversas formas de medicamentos, como medicamentos en polvo, comprimidos, píldoras, cápsulas y jarabes. Estos medicamentos se administran preferiblemente por la ruta oral.

45 **[0017]** La presente invención puede estar en forma de un producto alimenticio o bebida. Éste contiene el sobrenadante del cultivo obtenido anteriormente como ingrediente activo y proporciona el efecto de promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina. El producto alimenticio o bebida puede estar en cualquier forma; puede ser el propio sobrenadante del cultivo, o un producto alimenticio o bebida que contiene dicho sobrenadante de cultivo. El sobrenadante del cultivo o el producto seco del mismo se pueden añadir a cualquier otro alimento o bebida cuando es ingerido o bebido, añadir a los productos alimenticios o bebidas cuando se fabrican, o mezclar con los materiales de su preparación o producción. Los ejemplos de los productos alimenticios y bebidas incluyen bebidas lácteas, leches fermentadas, bebidas de frutas, jaleas, caramelos, productos de huevo como la mayonesa, productos de confitería, tales como tortas de mantequilla, y panes. Los ejemplos también incluyen diversas leches en polvo y otras composiciones nutricionales destinados a los bebés y los lactantes de bajo peso al nacer.

55 **[0018]** La presente invención puede estar en la forma de un pienso para animales. Éste contiene el sobrenadante del cultivo obtenido anteriormente como ingrediente activo y proporciona el efecto de promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina. De manera similar a los productos alimenticios y bebidas descritos anteriormente, el pienso para animales al que se añade el sobrenadante del cultivo puede estar en cualquier forma, y el sobrenadante de cultivo o el polvo seco del mismo se pueden añadir a los materiales durante el proceso de fabricación del pienso.

60 **[0019]** La dosis administrada o la cantidad mezclada del sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), para un adulto típico, se puede ajustar a 10 a 200 g por día, o de 0,5 a 50 g del producto seco

del mismo por día, con el fin de ejercer el efecto de promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.

[0020] A continuación, se mostrarán los ejemplos y el ejemplo de ensayo para explicar la presente invención con mayor detalle, pero estos se proporcionarán solamente como ejemplos, y el alcance de la presente invención no está limitado por estos ejemplos.

Ejemplo 1

(Preparación del sobrenadante de cultivo 1)

[0021] El medio de cultivo de suero de leche reducido (que contiene 13% en peso de suero de leche en polvo y 0,5% en peso de extracto de levadura) se esterilizó a 95°C durante 30 minutos, y después se inoculó con *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953). El cultivo se incubó a 37°C durante 16 horas, y después se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. Este sobrenadante se puede usar directamente como agente para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de acuerdo con la presente descripción.

Ejemplo 2

(Preparación del sobrenadante del cultivo 2)

[0022] Se esterilizó medio de leche sin grasa reducido (que contenía 13% en peso de leche en polvo no grasa y 0,5% en peso de extracto de levadura) a 95°C durante 30 minutos y después se inoculó con *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953). El cultivo se incubó a 37°C durante 16 horas, y después se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. Este sobrenadante se puede usar directamente como agente para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de acuerdo con la presente descripción.

[Ejemplo de ensayo 1]

(Administración de ensayo a células adiposas)

[0023] En este ensayo, se administró el sobrenadante del cultivo obtenido en el Ejemplo 1 a las células adiposas viscerales en cultivo primario. El ensayo se llevó a cabo mediante el uso de células adiposas viscerales en cultivo primario de rata (VAC01, Cell Garage Corporation) y el medio de inducción de la diferenciación de células adiposas viscerales (Cell Garage Corporation). Las células que se habían almacenado congeladas se descongelaron de acuerdo con el protocolo de Cell Garage Corporation y se sembraron en las placas de 24 pocillos. El día de la siembra se designó como día 0, y en el día 5 en el que la secreción de adiponectina se volvió activa, se añadió el sobrenadante del cultivo obtenido a partir del cultivo bacteriano en medio de suero de leche reducido al medio de inducción de la diferenciación de células adiposas. En un experimento de comparación, no se añadió sobrenadante del cultivo bacteriano al medio de inducción de diferenciación de células adiposas. Las células se cultivaron durante 2 horas a 37°C a una presión parcial de dióxido de carbono de 0,5%, y el medio de cultivo se cosechó. La concentración de la adiponectina secretada al medio se determinó utilizando el kit de ELISA para adiponectina (Otsuka Pharmaceutical Corporation). Los valores de las mediciones se normalizaron mediante las cantidades del ADN extraído de los pocillos correspondientes.

(Resultados de la administración de ensayo a las células adiposas)

[0024] La figura 1 muestra los valores de medición de concentración de adiponectina obtenidos a partir del ensayo en el que se había utilizado medio de suero del leche reducido para el cultivo de *Lactobacillus gasseri*. La cantidad de adiponectina secretada se incrementó en aproximadamente 1,44 veces cuando se administró el sobrenadante del cultivo de *Lactobacillus gasseri* a las células adiposas, con respecto a las células que no habían recibido sobrenadante del cultivo bacteriano. La cantidad de la adiponectina secretada fue 1,36 veces mayor en comparación con las células a las que se añadió el medio de suero de leche reducido solo.

[0025] Los resultados anteriores han indicado que el sobrenadante del cultivo de *Lactobacillus gasseri* tiene el efecto de promover enérgicamente la secreción de adiponectina en las células adiposas, y que este efecto se atribuye a los factores derivados del *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) y no al medio de suero de leche reducido solo.

Ejemplo 3

[Producción de comprimidos]

[0026] El medio de cultivo de suero de leche reducido (que contenía 13% en peso de suero de leche en polvo y 0,5% en peso de extracto de levadura) se esterilizó a 95°C durante 30 minutos, y luego se inoculó con *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953). El cultivo se incubó a 37°C durante 16 horas, y después se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. Éste se sometió a un tratamiento de liofilización para producir el polvo de sobrenadante de cultivo. Una parte del polvo de sobrenadante de cultivo se mezcló con cuatro partes de leche en polvo no grasa, y esta mezcla en polvo se procesó en una máquina para prensar comprimidos (1 g por comprimido) de acuerdo con el procedimiento convencional, para producir los comprimidos de la presente invención que contenía 200 mg de sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.

Ejemplo 4

(Producción del agente en polvo)

[0027] Después de inocular a 5 litros de medio de suero de leche reducido *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), el cultivo estacionario se incubó a 37°C durante 18 horas. Cuando se completó la etapa de cultivo, el cultivo se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. A continuación, este sobrenadante de cultivo se mezcló con un volumen igual del medio de dispersión que contenía 10% en peso de leche en polvo no grasa y 1% en peso de glutamato de sodio. Después de ajustar el pH a 7, la mezcla se liofilizó. El material liofilizado resultante se granuló a través de un tamiz "de malla 60" para producir el producto del sobrenadante de cultivo liofilizado. De acuerdo con la sección "Agente en polvo" en la Decimotercera Edición Revisada de Japanese Pharmacopoeia Booklet Pharmaceutical Processing Rules, se añadieron 400 g de lactosa (Nikkyoku) y 600 g de almidón de patata (Nikkyoku) a 1 g de sobrenadante de cultivo liofilizado. Se mezclaron homogéneamente para producir el agente para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de la presente descripción.

Ejemplo 5

(Producción de cápsulas)

[0028] Después de inocular a 5 litros de medio de suero de leche reducido *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), el cultivo estacionario se incubó a 37°C durante 18 horas. Cuando se completó la etapa de cultivo, el cultivo se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. A continuación, este sobrenadante de cultivo se mezcló con un volumen igual del medio de dispersión que contenía 10% en peso de leche en polvo no grasa y 1% en peso de glutamato de sodio. Después de ajustar el pH a 7, la mezcla se liofilizó. El material liofilizado resultante se granuló a través de un tamiz "de malla 60" para producir el producto sobrenadante de cultivo liofilizado. Los ingredientes se mezclaron de acuerdo con la Tabla 1, se granularon, y se encapsularon, para producir las cápsulas para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina de la presente descripción.

[Tabla 1]

Sobrenadante del cultivo liofilizado		20,0 (% en peso)
Lactosa		24,5
Almidón soluble	55,0	
Estearato de magnesio	0,5	

Ejemplo 6

(Producción del alimento sano de tipo de barra)

[0030] Después de inocular a 5 litros del medio líquido MRS (Difco Corporation) *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), el cultivo estacionario se incubó a 37°C durante 18 horas. Cuando se completó la etapa de cultivo, el cultivo se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. A continuación, este sobrenadante de cultivo se mezcló con un volumen igual del medio de dispersión que contenía 10% en peso de leche en polvo no grasa y 1% en peso de glutamato de sodio. Después de ajustar el pH a 7, la mezcla se liofilizó. El material liofilizado resultante se granuló a través de un tamiz "de malla 60" para producir el producto sobrenadante de cultivo liofilizado. Se mezclaron 30 g de este polvo de sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 con 40 g de una mezcla igual de vitamina C y ácido cítrico, 100 g de azúcar granulado, y 60 g de una mezcla igual de almidón de maíz y lactosa. La mezcla se envasó en un paquete en forma de barra para producir el alimento sano de tipo de barra para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.

Ejemplo 7

(Producción de bebida)

- 5 **[0031]** Después de inocular a 5 litros de medio de suero de leche reducido *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), el cultivo estacionario se incubó a 37°C durante 18 horas. Cuando se completó la etapa de cultivo, el cultivo se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. Los ingredientes se mezclaron de acuerdo con la Tabla 2, se envasaron en un recipiente y se esterilizaron con calor, para producir el producto de bebida para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.
- 10

[Tabla 2]

Sobrenadante del cultivo	2,5 (% en peso)
Azúcar	7,5
Ácido cítrico	0,6
Zumo de manzana	10,0
Agua	79,4

Ejemplo 8

- 15 (Producción de yogur)
- [0033]** Se cultivó *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) en el medio líquido MRS (Difco Corporation). Las suspensiones de cultivo en la fase de crecimiento log se utilizaron cada una (1% con respecto al volumen del medio de suero de leche) para inocular el medio de suero de leche reducido al 13% con un suplemento de extracto de levadura al 0,5% (esterilizado a 115°C durante 20 minutos) para producir el "cultivo madre". El cultivo resultante se centrifugó a 3500 rpm durante 20 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. Este sobrenadante de cultivo se añadió a 2,5% a la mezcla de yogur que había sido esterilizado a 100°C durante 10 minutos y se enfrió. Para esto, se añadió la mezcla de arranque que consistía en *Lactobacillus bulgaricus* y al 3%, y se dejó que la mezcla experimentara fermentación a 37°C. Cuando la acidez de ácido láctico llegó a 0,85, la mezcla se enfrió, se dio por terminada la fermentación, y de este modo se obtuvo el yogur para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.
- 20
- 25

Ejemplo 9

- 30 (Producción de bebida de yogur)
- [0034]** Se añadieron 4 kg de azúcar granulado, 3 kg de agua, y 0,15 kg de pectina a 43 kg del yogur obtenido en el Ejemplo 8. Estos componentes se mezclaron hasta la homogeneidad para producir 50 kg de la bebida de yogur para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina. Esta bebida de yogur tenía un sabor deseable suave, y el pH fue de 3,6.
- 35

Ejemplo 10

- 40 (Producción de pienso para perros)
- [0035]** Después de inocular a 5 litros de medio líquido MRS (Difco Corporation) *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953), el cultivo estacionario se incubó a 37°C durante 18 horas. Cuando se completó la etapa de cultivo, el cultivo se centrifugó a 7000 rpm durante 15 minutos para producir el sobrenadante del cultivo que se había aclarado de los materiales precipitados/sedimentados. A continuación, este sobrenadante de cultivo se mezcló con un volumen igual del medio de dispersión que contenía 10% en peso de leche en polvo no grasa y 1% en peso de glutamato de sodio. Después de ajustar el pH a 7, la mezcla se liofilizó. El material liofilizado resultante se granuló por medio de un tamiz "de malla 60" para producir el producto sobrenadante de cultivo liofilizado. Los ingredientes se mezclaron de acuerdo con la Tabla 3 para producir el pienso para perros para promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina.
- 45
- 50

[Tabla 3]

Sobrenadante del cultivo Liofilizado	2,5 (% en peso)
Leche en polvo no grasa	13,5
Harina de soja	12,0
Aceite de soja	4,0
Aceite de maíz	2,0
Aceite de palma	27,0
Almidón de maíz	14,0
Harina de trigo	9,0
Salvado de trigo	2,0
Mezcla de vitaminas	9,0
Mezcla de minerales	2,0
Celulosa	3,0

Aplicabilidad industrial

- 5 **[0037]** La ingesta de la composición de la presente invención puede promover la secreción de y/o suprimir la disminución de adiponectina en los tejidos adiposos. Se cree que la disminución en la secreción de adiponectina causa/agrava el síndrome metabólico en el que se producen simultáneamente varias afecciones tales como hipertensión, hiperlipidemia y diabetes, y la presente invención es útil para su prevención y tratamiento. Los sobrenadantes de cultivo de la fermentación de la leche que puede proporcionar sabores deseables y gustos fascinantes a los productos alimenticios tienen una aplicabilidad industrial extremadamente elevada.
- 10

0-1	Formulario PCT/RO/134 (SAFE) Las indicaciones sobre los microorganismos depositados u otro material biológico (Regla 13bis de PCT) se realizaron a través de:	JPO-PAS 0352
0-1-1		
0-2	Número de solicitud internacional	
0-3	Solicitante o Número de Referencia de Agente	SNOW-164
1	Las indicaciones realizadas a continuación hacen referencia al microorganismo depositado u otro material biológico mencionado en la descripción.	0001, 0009, 0010, 0011, 0013, 0014, 0019, 0021, 0022, 0025, 0026, 0027, 0028, 0030, 0031, 0033, 0035
1-1	Números de párrafo	
1-3	Indicación del depósito	
1-3-1	Nombre de la institución de depósito	Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository (IPOD)
1-3-2	Dirección de la institución de depósito	Chuo 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba-City, Ibaraki 305-8566 Japón
1-3-3	Fecha de depósito	26-02-2008
1-3-4	Número de Acceso	IPOD FERM BP-10953
1-5	Estados designados para los que se realizaron las indicaciones	Todos los Estados designados

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende un sobrenadante de cultivo de *Lactobacillus gasseri* SBT2055 (FERM BP-10953) como ingrediente activo para su uso en el tratamiento o la prevención de la hipertensión, la hiperlipidemia, la diabetes mellitus de tipo 2, la obesidad abdominal, la dislipidemia, la resistencia a la insulina o el síndrome metabólico.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en la forma de un medicamento.
- 10 3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en forma de un producto alimenticio o bebida.
4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en forma de un pienso para animales.

[Figura 1]

