

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 438 591**

51 Int. Cl.:

A23C 9/146 (2006.01)
A61K 38/40 (2006.01)
A61K 38/18 (2006.01)
A61K 38/30 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 35/20 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.07.2006 E 06794209 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2013 EP 1912513**

54 Título: **Fracciones proteicas lácteas novedosas y su uso para la prevención o el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas**

30 Prioridad:

29.07.2005 FR 0508177

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

17.01.2014

73 Titular/es:

**COMPAGNIE LAITIERE EUROPEENNE (100.0%)
F-50890 Condé-sur-Vire, FR**

72 Inventor/es:

**MIKOGAMI, TAKASHI;
SOUPPE, JÉRÔME;
JOUAN, PIERRE y
BOURTOURAUULT, MICHEL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 438 591 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

Fracciones proteicas lácteas novedosas y su uso para la prevención o el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas

5 La presente invención tiene por objeto fracciones proteicas lácteas novedosas enriquecidas en TGF- β , un procedimiento para su preparación y su uso en la preparación de un medicamento y/o una composición alimentaria destinado a la prevención y/o al tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas, y en particular la psoriasis.

La psoriasis es una dolencia dermatológica crónica, caracterizada por una erupción eritematoso-escamosa, que evoluciona por oleadas, de manera predominante a la altura de los codos, las rodillas y el cuero cabelludo.

10 Desde el punto de vista biológico, la psoriasis es un proceso inflamatorio crónico que se caracteriza por una proliferación y una diferenciación anormales de los queratinocitos asociados a una infiltración de la dermis y de la epidermis por los linfocitos T y los polinucleares neutrófilos que forman microabscesos en la capa córnea.

Las causas de la aparición de psoriasis en un individuo son mal conocidas. Se citan varios factores que favorecen la aparición de la psoriasis:

- 15 - un factor hereditario,
- un factor psicológico (estrés, cambios hormonales, ...),
- una anomalía inmunitaria.

Finalmente, determinados medicamentos e infecciones tanto víricas como bacterianas son susceptibles de desencadenar crisis psoriáticas.

20 En la actualidad, no existen tratamientos que puedan curar la psoriasis. Los tratamientos conocidos hasta el momento solo pueden suspender y/o atenuar los síntomas de la psoriasis.

Para la psoriasis limitada a algunas placas, se prescribe la vitamina D, eventualmente combinada con corticoesteroides en aplicación local. Se pueden prescribir también retinoides en aplicación tópica.

En los casos más graves se prescribe fototerapia, o eventualmente metotrexato o retinoides de forma sistémica. Estos últimos tratamientos están asociados a efectos secundarios importantes.

25 No existe, por tanto, en el momento actual un tratamiento satisfactorio de la psoriasis.

El resto de enfermedades Inflamatorias crónicas, como la artritis reumatoide, la osteoartritis, la enfermedad de Crohn, la esclerosis en placas, el lupus eritematoso, presentan los mismos problemas al profesional sanitario: no existe ningún tratamiento para curar las enfermedades y los tratamientos existentes para tratar las manifestaciones de estas patologías bien son insuficientes, o bien están asociados a los efectos secundarios muy importantes. En las enfermedades autoinmunes también está presente un componente inflamatorio crónico.

30 Se sabe que los factores de crecimiento, de la misma forma que las quimioquinas y citoquinas, producen efectos sobre los procesos inflamatorios. Estos efectos van de la amplificación a la supresión del proceso de inflamación.

Se sabe especialmente que determinados factores de crecimiento de la leche tienen una actividad moduladora del proceso de inflamación.

35 Por ejemplo, el documento WO 96/34614 describe la utilización de un producto lácteo en la preparación de un medicamento para la prevención de una lesión de la mucosa del tubo digestivo provocada por la quimioterapia o la radioterapia.

40 El extracto se obtiene preferentemente por paso de la leche por una columna de cromatografía por intercambio catiónico. Comprende preferentemente lactoferrina y/o de la lactoperoxidasa y un factor de crecimiento, especialmente el TGF- β .

45 El TGF- β (Transforming Growth Factor) es un factor de crecimiento peptídico que regula el crecimiento y la diferenciación celular. Se trata de una molécula dimérica de 25 kD que puede tener diferentes Isoformas: TGF β ₁, TGF β ₂ y TGF β ₃. El TGF- β es conocido por su capacidad para regular, y especialmente, para reducir determinadas etapas de la respuesta Inmunitaria e inflamatoria (G. Prud'homme y col., J. Autoimmun. (2000), 14, 23-42; M. Shull y col., Nature (1992), 359, 693-699; J. Graycar y col., Mol. Endocrinol. (1989), 3, 1977-1986; J.Letterio y col., Annu. Rev. Immunol. (1998), 16, 137-161). Está presente en forma latente (no activa biológicamente) o en forma activa.

Está presente en la leche en cantidades muy bajas (30 μ g/l de leche). Sin embargo, en la leche están presentes otros muchos factores con una actividad distinta de la del TGF- β , eventualmente opuesta a la del TGF- β , y la consecuencia es que el TGF- β contenido en la leche no tiene una acción significativa en el proceso de inflamación.

50 Además, el aislamiento del TGF- β a partir de la leche es poco factible a escala industrial, en primer lugar por

razones de coste y también porque los procesos de aislamiento entrañan a menudo una desnaturalización de las proteínas diana y en ese caso se obtiene una fracción proteica de la leche que ha perdido todas las propiedades biológicas de las proteínas que contiene.

5 El documento EP 0.313.515 describe un procedimiento de aislamiento del TGF- β a partir de la leche. Sin embargo, este procedimiento conlleva numerosas etapas, bastante complejas, y sigue siendo poco viable desde el punto de vista económico.

10 Con el objeto de obtener una fracción proteica de la leche que tenga actividad biológica sobre los procesos Inflamatorios, es decir una reducción o supresión de los procesos Inflamatorios, debería ser posible, a partir de la leche, aumentar el contenido de TGF- β con respecto a otras proteínas, eliminando al mismo tiempo al menos algunos de los factores antagonistas del TGF- β que bloquean sus propiedades antiinflamatorias cuando está en la leche. La dificultad de esta medida es aún mayor porque se desconocen cuáles son exactamente los antagonistas del TGF- β .

15 Varios autores han abordado el problema de aislamiento de fracciones de proteínas de la leche enriquecidas con TGF- β . Es el caso de las solicitudes de patentes, y las patentes WO 96/34614, EP 0 545 946, WO 01/25276, WO 03/008447, FR 2 827 240, EP 0869 134.

20 El documento EP-0.545.946 describe un procedimiento de extracción de factores de crecimiento del lactosuero; comprendiendo este procedimiento las etapas de: filtración del suero para retirar los materiales insolubles, ajuste del pH entre 6,5 y 8, utilización de una resina intercambiadora de cationes de tipo Sefarosa, en la que se adsorben los principales componentes básicos mientras que se eluyen las principales proteínas ácidas, equilibrado de la resina mediante un tampón, aplicación del filtrado a la resina, elución con un tampón de fuerza iónica elevada, filtración para eliminar las sales, concentración.

25 El documento EP 0.869.134 describe un procedimiento para recuperar uno o varios factores de crecimiento a partir de leche o de un derivado lácteo leche por adsorción en un intercambiador de cationes, elución fraccionada, obtención de una fracción enriquecida en factores de crecimiento, y tratamiento posterior a un pH comprendido entre 3,5 y 4,5. El procedimiento se aplica preferentemente con una velocidad superficial elevada y una carga de líquido elevada.

30 El documento WO 01/25276 describe un procedimiento de extracción del TGF- β y del IGF-1 que comprende los siguientes pasos: recuperación de una fracción básica de la leche por cromatografía de intercambio catiónico, paso de las fracciones recuperadas por una columna de hidroxipatito, elución con al menos dos eluyentes de concentración creciente de sales con el fin de obtener dos fracciones:

- una fracción enriquecida en IGF-1 con IGF-1/TGF- β > 10
- una fracción enriquecida en TGF- β con TGF- β / IGF-1 > 5 y que contiene de 30 al 50 % de inmunoglobulinas con respecto a la cantidad total de proteínas.

35 El documento FR 2.827.240 describe un procedimiento de obtención de una fracción proteica enriquecida en TGF- β en forma activada, a partir de una solución rica en proteínas solubles de la fase acuosa de la leche mediante: a) ajuste de la concentración de proteínas solubles a 5-30 g/l, b) precipitación mediante tratamiento ácido, c) microfiltración-diafiltración, d) recuperación del retentado de la microfiltración, e) secado.

40 El documento WO 03/008447 describe un procedimiento para aislar los factores de crecimiento TGF- β , IGF-1, lactoperoxidasa e inmunoglobulinas. Una fracción proteica básica de la leche se recupera mediante cromatografía de intercambio catiónico. La fracción obtenida se somete a cromatografía de interacción hidrofóbica.

Sin embargo, ninguno de estos procedimientos ha permitido obtener, en condiciones industrialmente viables, una fracción proteica láctea que tenga con una eficacia real sobre las patologías inflamatorias crónicas y sobre sus manifestaciones o síntomas, y, en particular, sobre la psoriasis.

45 De este modo, de un modo sorprendente, el solicitante ha descubierto nuevas fracciones proteicas lácteas que tienen cierta acción sobre los procesos inflamatorios crónicos y, en particular, sobre la psoriasis.

Las fracciones proteicas lácteas de la invención se pueden obtener mediante un procedimiento que incluye las etapas siguientes:

Se utiliza leche o lactosuero como producto de partida.

- 50
- a) la leche o el lactosuero se someten eventualmente a microfiltración o a un tratamiento térmico;
 - b) la leche o el lactosuero o el producto obtenido de la etapa (a) se deposita en una resina de intercambio catiónico que consiste en un polímero sintético nanoporoso funcionalizado con grupos funcionales de tipo base conjugada con un anión de un ácido fuerte; la velocidad lineal está comprendida entre 2,8 y 4,5 m/h y el volumen de leche o de lactosuero en relación con el volumen de resina está comprendido entre 100 y 200;
 - c) la resina de intercambio catiónico se lava con agua desmineralizada;

- d) la resina se eluye con disoluciones de salmuera de concentración creciente;
- e) se recupera un eluato correspondiente a una disolución de salmuera de conductividad comprendida entre 21,0 y 22,0 mS/cm.

El procedimiento de la invención puede además incluir una o varias de las etapas siguientes:

- 5 f) el eluato obtenido en (e) se concentra mediante ultrafiltración y se recupera el retentato;
- g) el retentato obtenido en (f) se esteriliza mediante microfiltración y se recupera el permeato;
- h) el permeato obtenido en (g) se seca por atomización.

10 Como producto de partida en el procedimiento de acuerdo con la invención, se puede utilizar bien leche, o bien lactosuero, preferentemente procedentes de una vaca. El lactosuero es el líquido residual obtenido tras la extracción de proteínas y de la materia grasa de la leche o del suero lácteo. Por lo general, se distinguen tres clases de lactosuero. Las dos primeras categorías se clasifican según la acidez del lactosuero, que puede ser inferior o igual a 1,8 g de ácido láctico/l: el lactosuero dulce, procedente de la fabricación de queso de pasta prensada cocida o no cocida (Emmenthal, San Paulin etc.) y el lactosuero ácido, procedente de la caseína o de otros quesos obtenidos por coagulación mixta o láctica (pastas blandas, pastas frescas). La composición media del lactosuero dulce es, a título indicativo, para 61 g de materia seca por kg de lactosuero, de 42 a 48 g de lactosa, 8 g de proteínas, 2 g de grasas, 15 5 a 7 g de minerales, 1 a 5 g de ácido láctico y el resto de minerales y vitaminas.

Se conoce igualmente el lactosuero ideal obtenido por microfiltración de la leche con un soporte de porosidad media de 0,1 μm .

20 Según una primera variante de la invención, se utiliza leche como producto de partida, y ventajosamente leche de vaca, cuya composición permite, según el procedimiento de acuerdo con la invención, obtener un aislado de proteínas con propiedades biológicas más interesantes. Esta variante también permite igualmente obtener un rendimiento en proteínas superior a las variantes que utilizan el lactosuero como producto de partida.

25 Según una segunda variante de la invención, se utiliza como producto de partida el lactosuero ácido de la obtención de caseinato. Esta variante representa una ventaja económica en la medida en que el producto de partida es un subproducto resultante del aprovechamiento industrial y de un bajo coste.

La leche utilizada como producto de partida puede ser leche de vaca, de cabra, de oveja, de búfala. Se puede desgrasar de manera conocida por centrifugación.

30 La leche o el lactosuero se someten a un tratamiento que permite eliminar la contaminación de origen microbiano. Con este fin, la leche se somete ventajosamente a un tratamiento térmico, a una temperatura no superior a 68°C, o a una primera etapa de microfiltración, por ejemplo, con un filtro que tiene una porosidad de aproximadamente 1,4 μm .

A continuación, el permeato de la microfiltración, o bien directamente la leche o el lactosuero, se introduce en la columna de resina.

35 La resina utilizada en el procedimiento descrito anteriormente se compone de un polímero sintético nanoporoso polianiónico. El polímero es, preferentemente, tridimensional de forma esférica o esferoidal. Contiene grupos funcionales del tipo ácido fuerte, en forma de la base conjugada de un anión de dicho ácido fuerte. Está preferentemente funcionalizado con grupos SO_3^- . Además, el polímero que integra la resina debe poseer propiedades de resistencia mecánica que le permitan resistir las tensiones hidráulicas resultantes de los parámetros de elución preferidos.

40 En la etapa (b), el caudal de alimentación de la columna está comprendido entre 10 y 15 m^3/h y la velocidad lineal está comprendida entre 2,8 y 4,5 m/h.

En la etapa (b), la relación entre el volumen de leche y el volumen de resina está comprendida entre 100 y 200.

Tras depositar la leche o el lactosuero, la columna de resina se lava con agua desmineralizada, utilizando preferentemente de 10 a 15 l de agua/l de resina.

45 A continuación se utiliza una disolución de salmuera que contiene una concentración de sal de 10 a 14 g/l, preferentemente de 11 a 13 g/l.

El caudal de salmuera es de 1,5 a 2 m^3/h y la velocidad lineal de la solución de salmuera es, ventajosamente, de 0,4 a 0,6 m/h. La relación entre el volumen de salmuera y el volumen de resina está comprendida entre 2,5 y 3,5.

50 El eluato así recuperado se concentra a continuación mediante una o varias etapas de ultrafiltración, y eventualmente una o varias etapas de diafiltración. Esas etapas se llevan a cabo de manera ventajosa a baja temperatura (2 a 6°C).

El retentato así obtenido se microfiltra y seca por atomización.

En cualquier caso, se pueden prever otros procedimientos de desmineralización y de concentración conocidos del experto en la técnica.

Se obtiene de este modo una fracción proteica láctea con las características siguientes:

- 5
- contenido en TGF- β comprendido entre 0,010 y 0,025 % en peso con respecto al peso total de proteínas;
 - contenido en IgG (inmunoglobulina) < 25 % en peso con respecto al peso total de proteínas;
 - relación TGF- β / IGF 1 \geq 5 en peso/peso.
 - contenido en lactoperoxidasa comprendido entre 35 y 45 % en peso con respecto al peso total de proteínas;

Estas fracciones proteicas lácteas constituyen otro objeto de la invención.

10 De manera sorprendente, las fracciones proteicas lácteas de la invención consiguen una reducción en la proliferación de linfocitos tal como se evalúan en células de bazo de ratones sacrificados: las células tratadas con cloruro de amonio y lavadas se incuban durante 48 horas en presencia de las fracciones proteicas objeto de la invención y de un agente mitógeno como concanavalina A con adición de 5-bromodesoxiuridina en el medio celular al finalizar el cultivo. La proliferación de linfocitos se evalúa por la cantidad de 5-bromodesoxiuridina que se incorpora a las células.

15 Puesto que se sabe que la epidermis psoriática es el punto donde acude un influjo de linfocitos T activados, las fracciones proteicas, objeto de la invención, se pueden utilizar para la prevención o el tratamiento de la psoriasis, y también de otras enfermedades tales como las enfermedades Inflamatorias crónicas y/o sus síntomas. Entre estas patologías se puede citar la psoriasis pero también la artritis reumatoide, la osteoartritis, la enfermedad de Crohn, la esclerosis en placas, el lupus eritematoso. Además, es posible que tengan cierto efecto sobre el componente
20 inflamatorio de las enfermedades autoinmunes. Por consiguiente, se pueden utilizar en la prevención y/o el tratamiento de las enfermedades autoinmunes, en particular en la prevención y/o el tratamiento el componente inflamatorio de las enfermedades autoinmunes.

Además, el procedimiento de la invención es fácilmente realizable a escala industrial, su aplicación práctica es sencilla e incluye solamente un número limitado de etapas.

25 Otra ventaja del procedimiento de la invención reside en el hecho de que permite recuperar otras fracciones proteicas lácteas que presentan un interés industrial determinado. Se puede eluir la columna mediante disoluciones acuosas de salmuera de concentración creciente que permiten recuperar diferentes fracciones proteicas lácteas, eventualmente después de haber recuperado la fracción de la etapa e). En una etapa e') la fracción que se eluye con una disolución de salmuera de conductividad comprendida entre 50,5 a 51,5 mS/cm es una fracción enriquecida en
30 lactoferrina. Permite recuperar una composición proteica láctea rica en lactoferrina en una sola etapa de cromatografía. Preferentemente, esta etapa del procedimiento se aplica de forma práctica utilizando una o varias de las condiciones siguientes:

- 35
- la relación entre el volumen de salmuera y el volumen de resina está comprendida entre 2,5 y 3,5.
 - el caudal de salmuera está comprendido entre 1,5 y 2 m³/h,
 - la velocidad linear de elución está comprendida entre 0,4 y 0,6 m/h.

Además, puede incluir etapas posteriores, de ultrafiltración, de diafiltración, de microfiltración y/o de secado, especialmente por atomización.

Este procedimiento de aislamiento de una fracción proteica láctea enriquecida en lactoferrina constituye otro objeto de la invención.

40 Otro objeto de la invención es una composición farmacéutica que comprende una fracción proteica láctea de la invención y un soporte farmacéuticamente aceptable.

En función de la patología indicada y de la gravedad de dicha patología, el experto en la técnica adaptará el modo de administración y el portador: aplicación tópica (crema, loción, parche transdérmico), administración oral (cápsulas, jarabe, comprimido, disolución o dispersión acuosa), inyección (disolución inyectable).

45 Se podrá igualmente prever el uso de las fracciones proteicas lácteas de la invención para preparar composiciones alimenticias, especialmente composiciones dietéticas, destinadas más particularmente a personas que padecen patologías inflamatorias crónicas, y, en particular, de psoriasis, o enfermedades autoinmunes. Dichas composiciones alimenticias incluyen una fracción proteica láctea de la invención en sustitución de las proteínas lácteas habitualmente empleadas. Pueden ser bebidas proteínicas, derivados lácteos...Estas constituyen otro objeto de la
50 invención.

El experto en la técnica adaptará la cantidad de fracción proteica láctea a administrar y la frecuencia de administración en función de la patología, de su gravedad, la edad y el peso del paciente.

Las composiciones farmacéuticas o dietéticas de la invención se pueden utilizar para el tratamiento de una patología inflamatoria crónica, en particular la psoriasis, o de una enfermedad autoinmune, durante una crisis. También se

pueden emplear durante el periodo de remisión con el fin de prevenir y/o evitar y/o separar en el tiempo la aparición de nuevos periodos de ataque agudo.

Ejemplo 1: Preparación de una fracción proteica láctea

5 250 m³ de leche desnatada y previamente tratada térmicamente a 68°C durante 15 segundos se someten a tratamiento por paso a través de una columna de cromatografía (en sentido descendente) en 20001 de resina de intercambio catiónico (SPEC 70 proporcionada por BIOSEPPRA) con las características siguientes:

Polímero totalmente sintético macroporoso polianiónico funcionalizado mediante grupos SO₃⁻; el polímero es tridimensional, de forma esférica o esferoidal; el tamaño de las partículas es superior a 261 µm; el soporte se fabrica mediante la polimerización del AMPS: ácido 2-acrilamida 2-metil propanosulfónico.

10 El caudal de alimentación de la columna es de 14 m³ /h de leche y la velocidad lineal es de 3,2 m/h.

Tras el paso de la leche, la columna se lava con 23.000 litros de agua desmineralizada (en sentido descendente).

A continuación se utiliza una disolución de salmuera de 12 g/l para extraer de la resina las proteínas fijadas. El caudal utilizado es de 1900 l/h y la velocidad lineal es de 0,6 m/h; el volumen de eluato obtenido es de aproximadamente 8.000 litros.

15 Este eluato se concentró a continuación mediante UF (DSS, membranas GR10D 400) a 4° C con un factor de concentración volumétrico tal que la conductividad del retentato siga siendo superior a 15 mS/cm. El retentato obtenido se concentró una segunda vez mediante UF y diafiltración (provisto de las mismas membranas pero con una superficie de sólo 34 m²) hasta obtener una conductividad del retentato de 5 mS/cm.

20 El retentato así obtenido se hizo pasar a 30° C por un módulo de microfiltración de 17 m² y con una porosidad de 1,4 µm; el permeato obtenido muestra un extracto seco de aproximadamente el 8% y se pulveriza por una tobera de efecto simple con una temperatura de entrada de aire de 180° C y una temperatura de salida de la torre de 80° C.

Se recuperan 1650 g de fracción proteica láctea en forma de polvo. Esta fracción tiene las características siguientes:

Humedad	5,4%
Proteínas	94,2%
Cenizas	0,9%
Contenido en TGF-β	110µg/g de proteínas
Contenido en lactoperoxidasa	407 mg/g de proteínas
Contenido en IgG	< 190 mg/g de proteínas

Ejemplo 2: Efecto de la fracción proteica láctea sobre el crecimiento celular

25 El efecto de esta fracción proteica láctea obtenida en el ejemplo 1 se ha probado sobre un cultivo de células procedentes de una efusión pleural de un adenocarcinoma de mama, MCF7. Se realizaron dos ensayos. Se sembraron células MCF7 en placas de 25 cm² a una concentración de 700.000 células/placa en el ensayo 1 y de 200.000 células/placa en el ensayo 2. Tras 24 horas de espera, el medio se aspiró y fue sustituido por 7 ml de medio que contenía la fracción proteica obtenida en el ejemplo 1 a una concentración de 218 µg/ml, 109 µg/ml o 0 µg/ml (medio testigo). A continuación, las células se cultivaron durante 72 horas con cambio de medio cada 24 horas. Los resultados corresponden a la media de los recuentos realizados en las 4 placas; para cada ensayo.

30 Los ensayos muestran un efecto inhibitor de una forma dependiente de la dosis de fracción proteica láctea obtenida en el ejemplo 1 sobre el crecimiento de las células MCF7.

Concentración de la fracción proteica en el medio (µg/ml)		218	109	0 (testigo)
Ensayo 1	Número de células (10 ⁶)	3,64 ± 0,46	4,64 ± 0,40	6,74 ± 0,70
	% de reducción con respecto al testigo	46,0%	31,2%	
Ensayo 2	Número de células (10 ⁶)	0,87 ± 0,05	1,15 ± 0,08	1,67 ± 0,08
	% de reducción con respecto al testigo	47,9%	31,1%	

35

Ejemplo 3: Preparación de un complemento nutritivo que incluye la fracción proteica láctea

Se preparó un complemento alimenticio en forma de cápsula, que incorpora la fracción proteica láctea obtenida en el Ejemplo 1.

	Para 1 cápsula de 350 mg
La fracción proteica láctea obtenida en el Ejemplo 1	125 mg
Omégacaps® de la empresa Polaris (polvo de aceite de pescado que contiene un 20% de ácidos grasos Omega 3)	125 mg (de los que 25 mg son de Omega 3)
Vitamina PP (niacina)	1,25 mg
Estearato de magnesio	5 mg
Emeocel®	93,75 mg

Ejemplo 4: Efectos del complemento nutritivo que incluye la fracción proteica láctea en las personas afectadas de psoriasis

5 Se ensayaron los efectos de este complemento nutritivo preparado en el Ejemplo 3. Veinte personas (8 mujeres y 12 hombres con una edad comprendida entre 23 y 70 años) afectadas de psoriasis tomaron diariamente durante 60 días 8 cápsulas (4 cápsulas por la mañana y 4 cápsulas por la noche) del complemento nutritivo preparado en el Ejemplo 3. Es decir, la ingesta diaria de la fracción proteica láctea obtenida en el ejemplo 1 era de 1 g, lo que corresponde a 110 µg de TGF-β. Se realizaron controles sintomáticos y análisis de sangre antes y después de los 60 días de ingesta de dicho complemento nutritivo.

10 Resultados:

- Síntomas de psoriasis: después de 60 días de ingesta de este complemento nutritivo, en el 80% de personas se ha observado una mejora evidente de los síntomas (disminución de las placas psoriáticas, inflamación, descamación y prurito).

Evaluación global de síntomas de psoriasis	Sobre 20 personas	
Mejora muy evidente	6	30%
Mejora evidente	10	50%
Ninguna mejora	4	20%
Agravamiento	0	0%

15 - Inocuidad: Este complemento nutritivo fue bien tolerado. Durante la totalidad del período de 60 días de ingesta no se observó ningún acontecimiento adverso grave. No se observaron anomalías en los parámetros hepáticos (ASAT, ALAT, GGT), renales (urea, creatinina) y hematológicos (leucocitos, polinucleares, linfocitos, monocitos, plaquetas), lo que confirma la inocuidad de este complemento nutritivo.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de una fracción proteica láctea **caracterizado por que** incluye las etapas siguientes:
- el producto de partida es leche o lactosuero;
- 5 a) la leche o el lactosuero se someten eventualmente a microfiltración o a un tratamiento térmico;
 b) la leche o el lactosuero o el producto obtenido de la etapa (a) se deposita en una resina de intercambio catiónico que consiste en un polímero sintético nanoporoso funcionalizado con grupos funcionales de tipo base conjugada de un anión de un ácido fuerte; la velocidad lineal está comprendida entre 2,8 y 4,5 m/h y el volumen de leche o de lactosuero en relación con el volumen de resina está comprendido entre 100 y 200;
- 10 c) la resina de intercambio catiónico se lava con agua desmineralizada;
 d) la resina se eluye con disoluciones de salmuera de concentración creciente;
 e) se recupera un eluato correspondiente a una disolución de salmuera de conductividad comprendida entre 21,0 y 22,0 mS/cm.
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** incluye además una o varias de las etapas siguientes:
- 15 f) el eluato obtenido en (e) se concentra mediante ultrafiltración y se recupera el retentato;
 g) el retentato obtenido en (f) se esteriliza mediante microfiltración y se recupera el permeato;
 h) el permeato obtenido en (g) se seca por atomización.
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, **caracterizado por que** el producto de partida es de la leche de vaca.
- 20 4. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** dicho polímero de la resina de intercambio catiónico está funcionalizado mediante grupos SO_3^- .
5. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el caudal de alimentación de la columna en la etapa (b) está comprendido entre 10 y 15 m^3/h .
- 25 6. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** se cumplen una o varias de las condiciones siguientes:
- 30 - la disolución de salmuera contiene una concentración de sal de 10 a 14 g/l;
 - el caudal de salmuera está comprendido entre 1,5 y 2 m^3/h ;
 - la velocidad lineal de la disolución de salmuera está comprendida entre 0,4 y 0,6 m/h;
 - la relación entre el volumen de salmuera y el volumen de resina está comprendida entre 2,5 y 3,5.
7. Fracción proteica láctea que se puede obtener mediante el procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por** cumplir las características siguientes:
- 35 - contenido en TGF- β comprendido entre 0,010 y 0,025 % en peso con respecto al peso total de proteínas;
 - contenido en IgG (inmunoglobulina) < 25 % en peso con respecto al peso total de proteínas;
 - relación TGF- β / IGF 1 \geq 5 en peso/peso.
 - contenido en lactoperoxidasa comprendido entre 35 y 45 % en peso con respecto al peso total de proteínas;
8. Uso de una fracción proteica láctea de acuerdo con la reivindicación 7 en la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de patologías inflamatorias crónicas y/o de sus síntomas.
9. Uso de acuerdo con la reivindicación 8 en la preparación de un medicamento destinado a la prevención o tratamiento de la psoriasis y/o de sus síntomas.
- 40 10. Uso de una fracción proteica láctea de acuerdo con la reivindicación 7 en la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de las enfermedades autoinmunes.
11. Uso de una fracción proteica láctea de acuerdo con la reivindicación 7 en la preparación de un medicamento destinado a la prevención o al tratamiento de las manifestaciones inflamatorias de las enfermedades autoinmunes.
- 45 12. Composición farmacéutica que comprende una fracción proteica láctea de acuerdo con la reivindicación 7 y un portador farmacéuticamente aceptable.
13. Composición alimentaria, especialmente una composición dietética, que comprende una fracción proteica láctea de acuerdo con la reivindicación 7.
- 50 14. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** incluye además una etapa (e') de aislamiento de una fracción proteica láctea enriquecida en lactoferrina en la cual se

recupera un eluato correspondiente a una disolución de salmuera de conductividad comprendida entre 50,5 y 51,5 mS/cm.

15. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14, **caracterizado por que** la etapa (e') del procedimiento se lleva a cabo utilizando una o varias de las condiciones siguientes:

- 5
- la relación entre el volumen de salmuera y el volumen de resina está comprendida entre 2,5 y 3,5.
 - el caudal de salmuera está comprendido entre 1,5 y 2 m³/h,
 - la velocidad lineal de elución está comprendida entre 0,4 y 0,6 m/h.