

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 794**

51 Int. Cl.:

**A23L 1/30** (2006.01)

**A61K 35/74** (2006.01)

**C12N 1/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.08.2009 E 09787836 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.12.2013 EP 2461705**

54 Título: **Composiciones nutracéuticas que contienen probióticos en un vehículo oleoso**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.02.2014**

73 Titular/es:

**LABOMAR S.R.L. (100.0%)**  
**Via Nazario Sauro 35/I**  
**31036 Istrana (TV), IT**

72 Inventor/es:

**FRATTER, ANDREA y**  
**BERTIN, WALTER**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 443 794 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 nutracéuticas que contienen probióticos en un vehículo oleoso

**Campo de la invención**

La presente invención concierne a composiciones nutracéuticas que contienen probióticos, en particular lactobacilos.

**5 Antecedentes de la invención**

El término "probióticos" identifica microorganismos beneficiosos, sean bacterias (por ejemplo lactobacilos y bifidobacterias) u hongos (por ejemplo levaduras), que contribuyen al mantenimiento de una composición correcta de la microflora intestinal en los mamíferos. A consecuencia de estrés, estados patológicos o administración de fármacos, la composición de la microflora puede variar, con alteración consiguiente de la funcionalidad del tracto gastrointestinal. Se ha demostrado que la administración de probióticos no sólo ayuda a restablecer las funciones fisiológicas normales, sino que contribuye también a prevenir formas de diarrea causadas por bacterias patógenas, infecciones del aparato urogenital y enfermedades atópicas.

Uno de los problemas asociados con la administración de probióticos consiste en el hecho de que su vitalidad disminuye si el proceso para preparación de las formas de administración se lleva a cabo en condiciones incontroladas, por ejemplo si la temperatura aumenta excesivamente (usualmente por encima de 40°C) o si la humedad durante el curso del proceso es demasiado alta. Además, el contenido de microorganismos vitales en las formulaciones puede disminuir a lo largo del tiempo cuando las mismas se almacenan en condiciones inferiores a las óptimas (humedad del aire y temperatura elevadas).

Un problema adicional asociado con la administración de probióticos consiste en el hecho de que su vitalidad disminuye sustancialmente en el estómago debido a la acción de los jugos gástricos y al bajo valor de pH, en tanto que ello es necesario para que los mismos alcancen el intestino en número suficiente para producir su efecto beneficioso; por tanto, es necesario proporcionar alimentos o composiciones funcionales que sean capaces también de proteger tales microorganismos en el ambiente gástrico.

Varias composiciones nutracéuticas y alimentos funcionales que contienen probióticos se encuentran actualmente en el mercado. El problema de controlar el contenido de agua se ha resuelto, por una parte, por preparación de formulaciones sólidas, como por ejemplo microcápsulas, y por otra parte por reemplazamiento del agua en las formulaciones líquidas con vehículos oleosos. US 4.518.696 da a conocer, por ejemplo, composiciones líquidas que contienen probióticos, en particular lactobacilos, dispersados en aceite de girasol en presencia de sílice ("sílice de combustión"). Sin embargo, es sabido que incluso los disolventes oleosos contienen cierto porcentaje de agua, lo cual puede deteriorar la estabilidad de los microorganismos. Además, las formulaciones basadas en aceite no pueden redispersarse fácilmente en el agua, lo que las hace difíciles o desagradables de ingerir, particularmente para los niños.

Formulaciones basadas en aceite que contienen material biológico, en particular microorganismos probióticos, se describen por ejemplo en WO 2009/061222; en tales formulaciones, el efecto de estabilización se consigue recubriendo el material biológico con un aceite y un polímero natural. Esta solicitud propone también añadir opcionalmente un desecante, uno de los cuales es la sílice, en cantidad variable, a fin de obtener una consistencia más densa, que pueda someterse así a extrusión o compresión para obtener tabletas, gránulos, píldoras o pelets.

**Descripción de la invención**

El objeto de la presente invención son composiciones nutracéuticas que contienen probióticos en un vehículo oleoso, caracterizadas porque contienen un éster de sorbitán, una sal palmitato de ascorbilo y sílice.

Para los propósitos de la presente invención, el término "probiótico" identifica microorganismos probióticos seleccionados de bacterias y hongos, con inclusión de levaduras, sean naturales o modificados genéticamente. Debe entenderse también que las formulaciones de la invención pueden contener microorganismos pertenecientes a la misma cepa, o bien microorganismos pertenecientes a cepas diferentes. Preferiblemente, las composiciones de la invención conciernen a bacterias, como lactobacilos o bifidobacterias; ejemplos específicos de las primeras son *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Casei*, *Lactobacillus Casei Immunitas*, *Lactobacillus Acidophilus*, *Lactobacillus Reuteri*, *Lactobacillus Bulgaricus*, *Lactobacillus Sporogenes*, *Lactobacillus spp*, en tanto que ejemplos específicos de los últimos son *Bifidobacterium Bifidus*, *Bifidobacterium lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium brevis*, *Bifidobacterium actiregularis*. Según una realización particular de la invención, el lactobacilo es *Lactobacillus rhamnosus* LGG ATCC 53103 (descrito en US 4.839.281), que produce una sustancia antimicrobiana que actúa contra diversas bacterias de la microflora intestinal y que se ha demostrado es eficaz en el tratamiento de la diarrea por Rotavirus, la diarrea de los viajeros y la diarrea por *Clostridium difficile*.

El término "vehículo oleoso" identifica uno o más lípidos del tipo triglicérido con longitud de cadenas de carbono diferente, usualmente entre 6 y 18 átomos de carbono; ejemplos de tales lípidos son aceite de coco, aceite de germen de trigo, aceite de girasol, aceite de oliva y triglicéridos derivados de ellos; preferiblemente, se utilizan

triglicéridos C<sub>8</sub>-C<sub>10</sub> de cadena media de carbonos, como el triglicérido caprílico/cáprico derivado de aceite de coco. Productos disponibles comercialmente basados en estos lípidos son producidos por Cognis con los nombres comerciales Migliol<sup>®</sup> 810, Migliol<sup>®</sup> 812, Delios<sup>®</sup> C, Delios<sup>®</sup> V, Delios<sup>®</sup> S o Cetio<sup>®</sup> LC.

5 El término "éster de sorbitán" identifica un éster de sorbitán con HLB alto, usualmente entre 10 y 20; ejemplos de ésteres de sorbitán con valor HLB alto son: monolaurato de polioxietilen-(20)-sorbitán (polisorbato 20); monopalmitato de polioxietilen-(20)-sorbitán (polisorbato 40); monoestearato de polioxietilen-(20)-sorbitán (polisorbato 60); triestearato de polioxietilen-(20)-sorbitán (polisorbato 65); monooleato de polioxietilen-(20)-sorbitán (polisorbato 80) y trioleato de poli-oxietilen-sorbitán (polisorbato 85). Según una realización preferida de la invención, el éster de sorbitán se selecciona de polisorbato 60 y polisorbato 80; el último es particularmente ventajoso desde el punto de vista de la formulación, dado que es líquido.

10 El palmitato de ascorbilo es el éster del ácido L-ascórbico con ácido palmítico (C16) y el mismo es ampliamente utilizado en las industrias de cosméticos y alimentarias como agente antioxidante y estabilizador para sistemas emulsionados, en particular como antioxidante para prevención del enranciamiento en las grasas (E304). En la industria de los cosméticos, el mismo se utiliza como forma de ácido L-ascórbico absorbible en la piel. Gracias a la estructura anfifílica conferida al mismo por la porción hidrófila del ácido L-ascórbico y por la porción lipófila del ácido palmítico, ASP se comporta como un agente tensioactivo. El mismo no es muy soluble en agua *per se*, pero a concentraciones comprendidas entre 0,5 y 5,0% (p/p con respecto a la fase acuosa), en particular entre 2 y 3%, y a temperaturas elevadas, se disuelve y forma un coagel blanco compacto por enfriamiento. Sin embargo, dado que ASP posee dos hidroxilos ácidos (enodiol) es posible obtener soluciones transparentes incluso en condiciones frías por adición de una base, gracias a la formación de una sal de ASP, que es ventajosa para los propósitos de obtención de emulsiones de ingredientes o sustancias activas termolábiles, como los probióticos. En las composiciones de la invención, se utiliza una sal de ácido ascórbico con un aminoácido básico como L-arginina o L-lisina o con un péptido de reacción alcalina, por ejemplo L-carnosina. Según una realización particular de la invención, el ácido ascórbico está salificado con L-arginina.

25 Para la preparación de las composiciones de la invención, se utilizan microorganismos probióticos en estado seco, en los cuales el contenido de agua se ha reducido ya con métodos conocidos, por ejemplo por procesos de secado o liofilización conocidos por las personas expertas en la técnica, y en los cuales la concentración de células está comprendida entre  $100 \times 10^9$  y  $500 \times 10^9$  unidades formadoras de colonias (ufc)/g, preferiblemente entre  $300 \times 10^9$  y  $400 \times 10^9$  ufc/g. Usualmente, las composiciones de la invención contienen un porcentaje en peso de microorganismo en forma de polvo de entre 2 y 10%, preferiblemente entre 3 y 5% con respecto al vehículo oleoso. En la presente descripción, los porcentajes de los ingredientes individuales se expresan en peso con respecto al peso del vehículo oleoso. El contenido de éster de sorbitán está comprendido entre 20 y 50%; el contenido de éster de ácido ascórbico está entre 3 y 10%, preferiblemente entre 5 y 8%; el contenido de sílice está entre 0,5 y 5%, preferiblemente entre 1 y 3%, mientras que el contenido de base orgánica, en particular de L-arginina, varía entre 0,05 y 3%, preferiblemente entre 1 y 2%.

Además, las composiciones según la invención pueden contener también polioles, en una cantidad comprendida entre 0,2 y 1,0%, para conferir un sabor dulce. Ejemplos de polioles adecuados son sorbitol, fructosa y sucralosa, preferiblemente sucralosa, en una cantidad comprendida entre 0,010 y 0,5%.

40 Las composiciones según la presente invención pueden prepararse por un proceso que comprende los pasos siguientes:

- a) calentamiento del vehículo oleoso a una temperatura comprendida entre 50 y 80°C;
- b) adición al vehículo oleoso calentado del éster de sorbitán, agitando continuamente hasta que se obtiene una solución transparente;
- 45 c) adición de sílice a la solución obtenida en el paso b), agitando continuamente hasta que se obtiene una solución transparente;
- d) enfriamiento a la temperatura ambiente de la solución obtenida en el paso c);
- e) adición de la base, el poliol y el probiótico a la solución enfriada, agitando continuamente el sistema; preferiblemente, estos ingredientes se añaden en sucesión. En caso de que sea necesaria agitación, se emplea usualmente agitación mecánica.

50 Las composiciones así obtenidas pueden formularse, junto con los posibles excipientes fisiológicamente aceptables, de una manera adecuada para administración oral. En particular, las composiciones pueden envasarse en frascos de dosis múltiples equipados con cuentagotas, a fin de que el usuario pueda tomar la dosis adecuada y mezclarla con agua o con otra formulación acuosa que contenga excipientes. Según una realización particularmente ventajosa, la composición puede envasarse en la forma de pequeños frascos monodosis, posiblemente en combinación con un recipiente separado que contiene una solución acuosa que contiene los excipientes, para ser mezclados en el momento de la administración.

Por tanto, la presente invención comprende también un kit constituido por la composición de la invención y un vehículo acuoso que contiene excipientes fisiológicamente aceptables. Además, la composición de la invención puede formularse en forma de cápsulas blandas que se toman con agua. Estas formulaciones farmacéuticas pueden prepararse con excipientes y por métodos conocidos por las personas expertas en la técnica, por ejemplo como se describe en Remington, "The Science and Practice of Pharmacy" (Lippicott Williams y Wilkins, edición 21ª).

Las composiciones de la invención son ventajosas dado que la asociación entre los ésteres de sorbitán y una sal palmitato de ascorbilo (ASP) forma una mixtura tensioactiva que, después de la adición de una fase acuosa, permite la formación de emulsiones extemporáneas por simple agitación en frío. La presencia de sílice al mismo tiempo hace posible deshidratar y espesar el vehículo oleoso. Los tests de estabilidad realizados sobre formulaciones preparadas en escala piloto han demostrado que después de 90 días, tanto a una temperatura de 25°C como de 4°C, la vitalidad de las cepas se mantiene inalterada. Una ventaja adicional consiste en el hecho de que el proceso de preparación es simple y eficaz en costes desde el punto de vista industrial, dado que el mismo consiste esencialmente en pasos de mezclado que no requieren aparatos costosos.

La invención se ilustrará a continuación con mayor detalle en el ejemplo que sigue.

## 15 Ejemplo

### Composición 1

Se pesaron 16,5 g de Delios S en un vaso de precipitados de vidrio limpio y seco, se añadieron 10 g de Veremul T 60 y 1,5 g de palmitato de ascorbilo, después de lo cual la mixtura se calentó a 50°C hasta que se obtuvo una fase transparente sin agregados no disueltos (ASP). Bajo agitación continua y calentamiento se añadieron 0,6 g de sílice, comprobando que la fase se espesa mientras se mantiene transparente. Una vez que se hubieron añadido los ingredientes, la mixtura se enfrió en agua fría al baño maría y, una vez que se hubo alcanzado una temperatura inferior a 30°C, se añadieron 0,3 g de arginina y 0,1 g de sucralosa, manteniendo bajo agitación mecánica enérgica; finalmente, se añadió 1 g de fermentos LGG (350 x 10<sup>9</sup> UFC/g), cubriendo el vaso de precipitados con aluminio hasta que se obtuvo una dispersión transparente, que se envasó en frascos de 10 y 6 gramos.

25

#### Fracos monodosis de 10 g

Ingrediente	Cantidad (g)
Delios S (triglicéridos de ácido caprílico/cáprico)	5,5000
Veremul T 60 (polisorbato 60)	3,3333
Palmitato de Ascorbilo	0,5000
Sílice	0,2000
Arginina base	0,1000
Sucralosa	0,0020
Fermentos Lácticos (Cepa LGG , 350 x 10 <sup>9</sup> ufc/g)	0,3333
Total	10 g

#### Fracos monodosis de 6 g

Ingrediente	Cantidad (g)
Delios S (triglicéridos de ácido caprílico/cáprico)	3,300
Veremul T 60 (polisorbato 60)	2,000
Palmitato de Ascorbilo	0,300
Sílice	0,120
Arginina base	0,060
Sucralosa	0,020
Fermentos Lácticos (Cepa LGG , 350 x 10 <sup>9</sup> )	0,200
Total	<b>6.000</b>

**Formulación 2**

Procediendo como se describe para la formulación 1, pero utilizando Veremul T 80 en lugar de Veremul T 60, se prepararon frascos monodosis de 6 y 10 g.

**REIVINDICACIONES**

1. Composiciones nutracéuticas basadas en fermentos probióticos en un vehículo oleoso, caracterizadas porque contienen una sal palmitato de ascorbilo con un aminoácido básico o con un péptido de reacción alcalina, un éster de sorbitán y sílice.
- 5 2. Composiciones según la reivindicación 1, en donde el vehículo oleoso se selecciona de uno o más lípidos del tipo triglicérido con longitud de cadena de carbonos comprendida entre 6 y 18 átomos de carbono.
3. Composiciones según la reivindicación 2, en donde el lípido se selecciona de un triglicérido con una cadena de carbonos comprendida entre 8 y 10 átomos de carbono.
- 10 4. Composiciones según la reivindicación 2 ó 3, en donde el lípido se selecciona de uno o más aceites de coco, aceite de germen de trigo, aceite de girasol y aceite de oliva.
5. Composiciones según la reivindicación 4, en donde el lípido es triglicérido caprílico/cáprico derivado de aceite de coco.
6. Composiciones según una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 5) en donde el aminoácido básico se selecciona de L-arginina y L-lisina, y el péptido de reacción básica es L-carnosina.
- 15 7. Composiciones según la reivindicación 6), en donde el aminoácido básico es L-arginina.
8. Composiciones según una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 7), en donde el éster de sorbitán se selecciona de polioxietilen-(20)-sorbitán monolaurato (polisorbato 20); polioxietilen-(20)-sorbitán monopalmitato (polisorbato 40); polioxietilen- (20)-sorbitán monoestearato (polisorbato 60); polioxietilen- (20)-sorbitán triestearato (polisorbato 65); polioxietilen- (20)-sorbitán monooleato (polisorbato 80) and poli- oxietilen-sorbitán trioleato (polisorbato 85).
- 20 9. Composiciones según la reivindicación 8), en donde el éster de sorbitán se selecciona de polioxietilen- (20)-sorbitán monoestearato (polisorbato 60) y polioxietilen sorbitán monooleato (polisorbato 80).
10. Composiciones según una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 9) en forma de gotas o cápsulas blandas.
11. Kit de administración constituido por la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 9) y un vehículo acuoso que contiene excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 25 12. Proceso para preparación de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1) a 9), que comprende los pasos siguientes:
  - a) calentamiento del vehículo oleoso a una temperatura comprendida entre 50 y 80°C;
  - b) adición del éster de sorbitán al vehículo oleoso calentado, agitando continuamente hasta que se obtiene una solución transparente;
  - 30 c) adición de sílice a la solución obtenida en el paso b), agitando continuamente hasta que se obtiene una solución transparente;
  - d) enfriamiento a la temperatura ambiente de la solución obtenida en el paso c);
  - e) adición de la base, el polioliol y el probiótico a la solución enfriada, agitando continuamente el sistema.

35