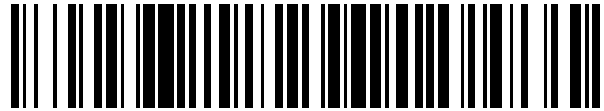


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 444 501**

51 Int. Cl.:

A61K 31/688 (2006.01)
A61K 31/661 (2006.01)
A61P 31/16 (2006.01)
A61K 35/20 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A23C 9/14 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.08.2007 E 11001424 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2013 EP 2335705**

54 Título: **Uso de esfingomielina para el tratamiento de la gripe**

30 Prioridad:

04.08.2006 JP 2006213273
04.08.2006 JP 2006213276

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.02.2014

73 Titular/es:

MEGMILK SNOW BRAND CO., LTD (100.0%)
1-1, Naebo-cho, 6-chome, Higashi-ku
Sapporo, JP

72 Inventor/es:

KAWAKAMI, HIROSHI

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 444 501 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

Uso de esfingomielina para el tratamiento de la gripe

CAMPO TÉCNICO

5 La presente invención se refiere a un agente para prevenir la infección con un virus de la gripe, que consiste en un fosfolípido que contiene esfingosina, particularmente esfingomielina, como un ingrediente activo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

Un virus de la gripe provoca prevalencia casi anualmente, infectando a las personas por el aire. Aunque su amenaza ha ido disminuyendo en los últimos años debido a una mejora de las condiciones sanitarias y un avance en la ciencia médica, todavía existen casos que provocan la muerte.

10 Existen tres tipos de tipo A, tipo B y tipo C en el virus de la gripe y, entre ellos, el virus de tipo A es propenso a generar mutación y propenso a inducir una epidemia de gripe global. La prevención contra la infección con un virus de la gripe se lleva a cabo principalmente mediante una inoculación de vacuna. Sin embargo, puesto que el virus de la gripe es propenso a provocar mutaciones por variaciones antigénicas mayores, variaciones antigénicas menores y similares, el virus prevalente no coincide con un antígeno de la vacuna en muchos casos, de modo que la situación
15 actual es que el efecto de prevención por la vacuna no es satisfactorio.

Debido a esto, la inoculación preventiva de vacuna a niños tampoco es obligatoria en la actualidad. La amantadina, el oseltamivir y similares se citan como los agentes terapéuticos para la gripe, pero es necesario tener cuidado con su uso debido a que es necesario tener en cuenta los efectos secundarios, el desarrollo de bacterias resistentes y problemas similares. Basándose en tales situaciones, el interés se ha dirigido a un agente o alimento o bebida que
20 se pueda ingerir diariamente y seguramente y sea eficaz para prevenir la infección con un virus de la gripe.

DIVULGACIÓN DE LA INVENCIÓN

PROBLEMAS QUE HA DE RESOLVER LA INVENCIÓN

Un objetivo de la invención es proporcionar un agente para el uso en la prevención de la infección con un virus de la gripe, que se pueda ingerir diariamente y seguramente.

25 MEDIOS PARA RESOLVER LOS PROBLEMAS

Dicho objetivo se resolvió mediante un agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe, que consiste en un fosfolípido que contiene esfingosina.

30 Esto es, la invención se refiere a las siguientes realizaciones. Un agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe, que consiste en un fosfolípido que contiene esfingosina como un ingrediente activo. El agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe según la realización anterior, en la que el fosfolípido que contiene esfingosina es esfingomielina. Realizaciones preferidas de la invención se indican en las reivindicaciones dependientes.

BENEFICIO DE LA INVENCIÓN

35 La infección con un virus de la gripe se puede prevenir mediante el agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe de la invención.

Puesto que el agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe de la invención consiste en un fosfolípido que contiene esfingosina, particularmente esfingomielina, como un ingrediente activo, estos se pueden proporcionar en grandes cantidades de forma relativamente económica y también tienen una característica de seguridad notablemente alta.

40 MEJOR MODO PARA LLEVAR A CABO LA INVENCIÓN

(Fosfolípido que contiene esfingosina)

A pesar de la presencia de esfingomielina en una leche en una cantidad grande de 20 a 30% en masa en fosfolípido, los estudios sobre su función se limitan a niveles celulares, y la información sobre sus funciones fisiológicas en un cuerpo vivo es extremadamente escasa. Según esto, no se ha reconocido su eficacia como un componente de

sustancias nutrientes.

5 En cuanto a las aplicaciones de la esfingomielina, se conocen preparaciones externas antiinflamatorias y analgésicas, un agente para mejorar las funciones de absorción digestiva de lípido, un agente para tratar enfermedades de insuficiencia de movimiento intestinal (JP-A-5-186330, JP-A-11-269074, JP-A-2003-252765) y similares, pero no se ha revelado nada sobre su efecto preventivo sobre la infección con un virus de la gripe, de modo que no se ha usado con el propósito de prevenir la infección con un virus de la gripe.

10 Por otra parte, se han presentado casos del uso de esfingomielina como un componente lipídico con el propósito de formar un liposoma emulsionando un componente que tiene una acción antiviral (JP-T-2006-508045) (el término "JP-T", según se usa en la presente memoria, significa una traducción japonesa publicada de una solicitud de patente PCT) y un antígeno para ser usado como vacuna (JP-A-5-339169), pero no se sabe que la esfingomielina por sí misma tenga actividad contra virus de la gripe.

15 Además, se sabe convencionalmente que el gangliósido, que es un glicolípido contenido en una leche, tiene una actividad antigripal (JP-A-4-105616), pero el ácido siálico, que es un componente constituyente, es importante para esta acción que es una función expresada mediante un mecanismo en el que un glicolípido que comprende ácido siálico inhibe competitivamente la unión del virus con epitelio mucoso. Según esto, es evidente que esto no recuerda a una función de esfingomielina que no comprende ácido siálico.

El fosfolípido que contiene esfingosina, particularmente esfingomielina, que se ha de usar en la invención se puede purificar o se puede usar como un fosfolípido que contiene esfingomielina.

20 Aunque la esfingomielina está profusamente contenida en un cerebro animal y una grasa de leche, es deseable una derivada de leche desde el punto de vista de llevar a cabo la invención. Como la esfingomielina derivada de leche, es deseable usar como material una leche fresca, concentrado de proteína de suero (WPC) y similares.

25 Como el método para obtener una fracción de fosfolípido que contiene esfingomielina a partir de la leche fresca, WPC y similares, se puede ejemplificar un método para extraer con éter o acetona (JP-A-3-47192), un método para usar una fracción soluble en agua que contiene cuajada de mantequilla o suero de mantequilla obtenida fundiendo en caliente mantequilla, y métodos similares conocidos convencionalmente. El contenido de esfingomielina de la fracción obtenida empleando estos materiales y métodos es aproximadamente 28% en masa y aproximadamente 9% en masa, respectivamente.

30 Además, se puede obtener esfingomielina que tiene pureza incrementada purificando la susodicha fracción de fosfolípido que contiene esfingomielina mediante diálisis, fraccionación con sulfato amónico, filtración en gel, precipitación isoeléctrica, cromatografía de intercambio iónico, fraccionación con disolvente, ultrafiltración (UF), microfiltración (MF) y técnicas similares.

35 Esta esfingomielina y este fosfolípido que contiene esfingomielina pueden tomar opcionalmente formas de líquido, polvo, comprimido y similares y se pueden administrar oralmente de forma directa. Además, se puede usar no solo esfingomielina sino también una composición de fosfolípido que contiene una cantidad eficaz de fosfatidilcolina definida para requerimientos de nutrición humana.

40 En cuanto a la cantidad de combinación del fosfolípido que contiene esfingosina en el agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe de la invención, en el caso de adultos, la cantidad de combinación se puede ajustar de tal modo que el fosfolípido que contiene esfingosina, particularmente esfingomielina, se pueda ingerir en una cantidad de aproximadamente 0,1 mg a 5.000 mg al día. Manteniéndose dentro de este intervalo, se puede ejercer la acción preventiva sobre la infección con un virus de la gripe. Puesto que el fosfolípido que contiene esfingosina, particularmente esfingomielina, que es el ingrediente activo del agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe de la invención es un componente lácteo, se puede decir que no hay problema en cuanto a su seguridad cuando se ingiere en gran cantidad.

45 Como la forma de dosificación del agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe de la invención, por ejemplo, se pueden ejemplificar comprimidos, cápsulas, gránulos, materiales en polvo y similares. Estos se pueden administrar oralmente o se pueden administrar transnasalmente. Además, estas formas de dosificación se pueden producir mediante métodos generales conocidos convencionalmente. Por ejemplo, se forman mezclando con vehículos, cargas y similares aceptables para la producción de preparaciones farmacéuticas.

Lo siguiente describe la invención adicionalmente con detalle con referencia a ejemplos y ejemplos de prueba.

50 **Ejemplo 1**

Un líquido de reacción obtenido dejando que una proteasa actúe sobre una solución acuosa al 10% en masa de un

concentrado de proteína de suero (WPC) se extrajo con una solución de cloroformo-metanol (2:1), se concentró y se extrajo adicionalmente con acetona para obtener una fracción lipídica compleja. A continuación, esta fracción lipídica compleja se trató con una cromatografía en columna de fluorosililo y se extrajo por etapas con soluciones de cloroformo-metanol para obtener una fracción fosfolipídica. Esta fracción fosfolipídica se trató con una cromatografía en gel y se extrajo por etapas con soluciones de cloroformo-metanol, y el resultado se liofilizó para obtener esfingomielina. Esta esfingomielina se trató con una cromatografía en capa fina y a continuación el color se reveló con reactivo de Dittmer y se midió mediante una densitometría para encontrar que el contenido de esfingomielina era 95,2% en masa. Es posible usar la esfingomielina obtenida de este modo directamente como un agente para prevenir la infección con un virus de la gripe.

10 [Ejemplo de Prueba 1]

(Verificación del efecto para prevenir la infección con virus de la gripe tipo A y virus de la gripe tipo B)

15 Ratones (Balb/c, machos, 6 semanas de edad) fueron infectados transnasalmente con virus A/Guizhou como el virus de la gripe tipo A o virus B/Ibaraki como el virus de la gripe tipo B y, al mismo tiempo, una solución de 100 mg/ml de la esfingomielina (SPM) obtenida en el Ejemplo 1 se administró transnasalmente en una dosis de 5 ml/dosis por cavidad nasal (dosis: 0,5 µg), y el efecto preventivo sobre la infección con un virus de la gripe se juzgó por la concentración de virus en los lavados de las cavidades nasales. En relación con esto, se prepararon grupos infectados transnasalmente con virus de la gripe respectivos solos. Se usó en el juicio un método de placas que usa células MDCK.

20 Los resultados se muestran en la Tabla 1. Como resultado de esto, el efecto preventivo de la infección mediante la administración de esfingomielina se confirmó tanto para el tipo A como para el tipo B. Particularmente, se confirmaba un efecto más considerable para el virus de la gripe de tipo A.

[Tabla 1]

	Muestra	Concentración de virus en la cavidad nasal
virus	Control	2,93 ± 0,08
A/Guizhou	SPM	1,99 ± 0,31
virus	Control	2,91 ± 0,12
B/Ibaraki	SPM	2,73 ± 0,06

[Ejemplo de Prueba 2]

25 (Verificación del efecto de la administración oral de esfingomielina sobre la prevención de la infección con un virus de la gripe)

30 Un ratón (Balb/c, macho, 6 semanas de edad) fue infectado con 1×10^3 ufp en una cantidad viral de virus de la gripe PR 8 (H1N1). Antes del tratamiento de infección, se administró oralmente esfingomielina, y su efecto preventivo de la infección se juzgó mediante la concentración de virus en los lavados de las cavidades nasales 3 días después de la infección con virus. Al llevar a cabo la administración oral, se usó esfingomielina dispersando en agua. Se usó en el juicio un método de placas que usa células MDCK.

Los resultados se muestran en la Tabla 2. La concentración de virus en las cavidades nasales se disminuyó significativamente en el grupo con administración de esfingomielina. Esto indica el efecto de la esfingomielina para prevenir la infección con un virus de la gripe.

35

[Tabla 2]

Muestra	Concentración de virus en la cavidad nasal x (UFP/ml: 10 ^x)
Control (sin administración)	2,91 ± 0,07
Administración de esfingomielina 1 mg	2,23 ± 0,16
Administración de esfingomielina 10 mg	2,15 ± 0,29

Ejemplo 2

5 Se produjeron soluciones para pulverización intranasal disolviendo 5 g de la esfingomielina obtenida en el Ejemplo 1 en 200 ml de agua destilada para inyección.

Ejemplo 3

Los materiales de la formulación mostrados en la Tabla 3 se mezclaron, se formaron como gránulos y a continuación se cargaron en cápsulas, produciendo de ese modo cápsulas para prevenir la infección con un virus de la gripe.

[Tabla 3]

Esfingomielina (Ejemplo 7)	20,0	(% en masa)
Lactosa	24,5	
Almidón soluble	55,0	
Estearato magnésico	0,5	

10

Ejemplo 4 (Referencia)

Los materiales de la formulación mostrados en la Tabla 4 se mezclaron, se cargaron en un recipiente y a continuación se esterilizaron térmicamente, produciendo de ese modo un alimento o bebida para prevenir la infección con un virus de la gripe.

15

[Tabla 4]

Esfingomielina (Ejemplo 7)	2,5	(% en masa)
Sacarosa	7,5	
Ácido cítrico	0,6	
Zumo de manzana	10,0	
Agua	79,4	

REIVINDICACIONES

1. Un agente para el uso en la prevención de una infección con un virus de la gripe, que consiste en un fosfolípido que contiene esfingosina.
2. El agente para el uso según la reivindicación 1, en el que la cantidad del agente es tal que se puede ingerir en una cantidad de 0,1 mg a 5.000 mg al día.
3. El agente para el uso según la reivindicación 1 o 2, en el que el fosfolípido que contiene esfingosina es esfingomielina.