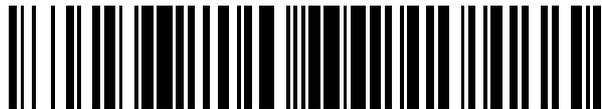


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 562 993**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7016 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 3/08 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2012 E 12731143 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.12.2015 EP 2729152**

54 Título: **Composición de oligosacáridos para prevenir o reducir el riesgo de síndrome metabólico**

30 Prioridad:

05.07.2011 GB 201111452

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

09.03.2016

73 Titular/es:

**CLASADO INC. (100.0%)
Edificio Interseco, Piso 2 Calle Elvira Mendez
Apartado 0816-01560
Panama**

72 Inventor/es:

**TZORTZIS, GEORGIOS y
VULEVIC, JELENA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 562 993 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

Composición de oligosacáridos para prevenir o reducir el riesgo de síndrome metabólico

5 La presente invención se refiere a una composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos para usar en un método para la prevención o reducción del riesgo de desarrollar síndrome metabólico. También se refiere a un método para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar síndrome metabólico mediante administración oral de una composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos. Los galactooligosacáridos son carbohidratos no digeribles que son resistentes a enzimas digestivas gastrointestinales de mamíferos pero se fermentan por bacterias de colon específicas.

10 Síndrome metabólico es el nombre que se le da a un grupo de factores de riesgo que ocurren juntos y que dan como resultado un incremento en el riesgo de trastornos cardiovasculares tales como enfermedad arterial coronaria, enfermedad cardíaca, ataque cardíaco y daño cardíaco, así como incremento de riesgo de ictus.

Ha habido varias definiciones de síndrome metabólico pero la más comúnmente utilizada actualmente es la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

15 Según la OMS los criterios o factores de riesgo para el síndrome metabólico son 1) obesidad central con una razón cintura:cadera superior a 0,9 para hombres y 0,85 para mujeres; 2) índice de masa corporal (IMC) superior a 30 kg/m²; 3) presión arterial superior a 140/90; 4) triglicéridos superiores a 1,7 mmol/l; 5) lipoproteína de alta densidad (colesterol HDL) <0,9 mmol/l en hombres y < 1mmol/l en mujeres; 6) glucosa en ayunas o dos horas después de una carga de glucosa superior a 7,8 mmol/l y 7) absorción de glucosa durante una pinzamiento hiperinsulinémico engluécimico en el cuartil más bajo de la población.

20 En general, el riesgo de un individuo de sufrir enfermedad cardíaca, diabetes e ictus incrementa con el número de factores de riesgo metabólico que tenga. Una persona que tiene síndrome metabólico tiene el doble de probabilidades de desarrollar una enfermedad cardíaca y cinco veces más probabilidades de desarrollar diabetes que alguien que no tiene síndrome metabólico.

25 Hasta la fecha, el objetivo del control del síndrome metabólico ha sido reducir el riesgo de enfermedad cardíaca y diabetes. Los médicos recomiendan usualmente cambios en el estilo de vida y/o prescriben medicamentos, tales como una combinación de beta-bloqueantes, diuréticos y/o una baja dosis diaria de aspirina para reducir la presión arterial, el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL) y el azúcar en sangre. Recomendaciones para cambios en el estilo de vida incluirían bajar de peso, probablemente mediante la ingesta de 500-1.000 calorías menos por día, y 30 minutos de ejercicio de intensidad moderada, tal como caminar, de 5-7 días por semana.

30 Se ha encontrado ahora en un ensayo humano aleatorizado cruzado doble ciego, controlado con placebo, que la administración oral de una composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos puede bajar niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre y, por tanto, se pueden usar en un método para la prevención o reducción del riesgo de desarrollar síndrome metabólico.

35 La mezcla de galactooligosacáridos, comprendía disacáridos Gal (β 1-3)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal; Gale (β 1-6)-Gal; Gal (α 1-6)-Gal; trisacáridos Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal (β 1-4)-Glc; tetrasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc y pentasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc.

40 Esta mezcla de galactooligosacáridos se divulga en EP 1 644 482, que describe una cepa nueva de *Bifidobacterium bifidum* que produce una enzima con actividad galactosidasa que convierte lactosa a esta mezcla nueva de galactooligosacáridos. Esta mezcla nueva ha demostrado tener propiedades anti-inflamatorias y prebióticas en el intestino.

Esta mezcla de galactooligosacáridos es comercializada bajo el nombre de Bimuno TM (marca registrada) y está disponible en Clasado Ltd (Milton Keynes, UK).

45 Según a un aspecto de la invención se proporciona una composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos como se definió anteriormente para usar en un método para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar síndrome metabólico.

50 Esta mezcla de galactooligosacáridos puede usarse también en un método para la prevención de trastornos cardiovasculares tales como enfermedad arterial coronaria, enfermedad coronaria cardíaca, ataque cardíaco e ictus. Se administra preferiblemente una cantidad eficaz de galactooligosacáridos a diario como una dosis única o alternativamente como dos dosis separadas varias horas.

El producto conocido como Bimuno TM comprende al menos el 49% de la materia seca como mezcla de galactooligosacáridos. El resto de la composición puede comprender componentes no activos tales como glucosa, galactosa, lactosa, goma arábica y ácido cítrico.

5 La composición se puede presentar en forma de polvo liofilizado, en forma de jarabe o en forma de pastilla. Se toma preferiblemente de forma oral cada día. La composición del polvo comprende preferiblemente de 1,35g a 9,6g de galactooligosacáridos en 2,75g a 20g de la composición en polvo, preferiblemente de 1,96g a 4,9g de galactooligosacárido en 4g a 10g del polvo, más preferiblemente 2,7g de galactooligosacárido en 5,5g de composición. La composición se puede añadir a una bebida, preferiblemente una bebida caliente, o espolvoreado en una comida, por ejemplo, en el cereal del desayuno.

10 Alternativamente, el galactooligosacárido se puede presentar como un jarabe o pastillas (jarabe deshidratado) en el que los componentes no activos pueden comprender glucosa, galactosa, lactosa y ácido cítrico. Una dosis diaria del jarabe puede comprender de 1,35g a 9,6g de la mezcla de galactooligosacárido en 3,55g a 25,29g de la composición del jarabe, preferiblemente de 1,96g a 4,9g de galactooligosacárido en 5,16g a 12,9g del jarabe, más preferiblemente 2,7g de galactooligosacárido en 7,25g del jarabe.

La invención será descrita además por medio de referencias a los siguientes ejemplos:-

Ejemplo 1

15 Composición de polvo liofilizado envasado en forma de bolsitas tubulares y contenido por 5,5g del producto final:-

Mezcla de galactooligosacáridos (GOS)	2,75g
Lactosa	1,40g
Monosacáridos (glucosa, galactosa)	0,64g
Coadyuvante de secado	0,24g
Ceniza	0,23g
Humedad	0,19g
Proteína	0,05g

Ejemplo 2

Composición de jarabe por 7,25g de producto acabado:-

Mezcla de galactooligosacáridos (GOS)	2,75g
Lactosa	0,58g
Monosacáridos (glucosa, galactosa)	1,69g
Ceniza	0,23g
Humedad	1,95g
Proteína	0,05g

20 Ejemplo 3

Eficacia de galactooligosacáridos sobre factores de riesgo en adultos con sobrepeso

Estudio

25 Se seleccionaron un total de 45-50 personas con tres o más factores de riesgo asociados con síndrome metabólico y su riesgo incrementado de enfermedad cardiovascular. Se incluyeron el mismo número de hombres y mujeres en el estudio de cohortes.

Los factores de síndrome metabólico usados para seleccionar a los sujetos incluyeron: resistencia a la insulina (medida como la razón incrementada de glucosa en ayunas (6-7 mmol/l) e insulina), presión arterial alta, dislipidemia nivel bajo de colesterol asociado a [lipoproteína de alta densidad (colesterol HDL) (<1 mmol/l), triglicéridos altos (> 1,3 mmol/l)], circunferencia de cintura (>40 en hombres; >35 en mujeres).

30

Otros criterios de inclusión fueron:-

18-65 años

IMC>25 Kg/m²

no haber sufrido un infarto de miocardio/ictus o cáncer en los últimos 12 meses

5 no diabético (glucosa diagnosticada o en ayunas >7 mmol/l) o haber sufrido otros trastornos endocrinos.

no sufrir enfermedad crónica coronaria, renal, enfermedad intestinal/trastorno gastrointestinal o tener un historial de hígado coleostásico o pancreatitis

no estar en tratamiento con fármacos para hiperlipidemia, hipertensión, inflamación,

hipercoagulación o usando fármacos que afecten a la motilidad o absorción intestinal

10 no tener historial de abuso de alcohol/drogas

no estar ni planear ponerse a régimen para perder peso

no estar tomando alguna dieta antioxidante u otros suplementos fitoquímicos, prebióticos o probióticos

no ser gestante, lactante, estar planificando un embarazo en los próximos 6 meses o tener la posibilidad de quedarse embarazada y no estar usando precauciones anticonceptivas eficaces

15 no haber tomado antibióticos durante 1 mes previo

no ser anémico (hemoglobina >14g/dl en hombres; >11,5 g/dl en mujeres)

no ser fumador.

20 A los voluntarios con los criterios de inclusión se les pidió asistir a una sesión de cribado durante la que se les tomó una muestra de sangre en ayunas (12 horas) y su IMC, y se les midió la circunferencia de cintura y la presión arterial. La muestra de sangre (~10 ml) se analizó en el Hospital Royal Berkshire para determinar el colesterol total (CT), colesterol HDL, triacilglicerol, glucosa e insulina. Las personas que tenían anemia (Hb <14g/dl en hombres, <11,5g/dl en mujeres) o que tenían una bioquímica sanguínea 'anormal' basada en el análisis anterior, fueron excluidos automáticamente. Se usaron las mediciones para identificar a los individuos con el riesgo metabólico más alto, que fueron entonces invitados a participar en el estudio.

25 El tratamiento A o B se asignó aleatoriamente a cada participante utilizando una razón de asignación 1:1 para los 2 grupos de estudio (incluyendo estratificación por género). A los voluntarios se les pidió asistir a la Universidad durante un total de 6 visitas. El estudio fue un ensayo aleatorizado, controlado, cruzado doble ciego con Maltodextrina como placebo. A los voluntarios se les indicó que ingirieran el producto de ensayo (GOS) y/o el placebo cada día durante 12 semanas, con un período de suspensión de 6 semanas entre medias. Tanto GOS como placebo se suministraron en polvo en sobres (5,5g) y se indicó a los voluntarios que lo espolvorearan sobre una taza de cereales o que lo añadieran a cualquier bebida, y lo ingirieran diariamente. La dieta habitual se evaluó durante 4 días de comida diarias pre-validadas (2 fines de semana y 2 días a la semana). A las 0, 6 y 12 semanas de la intervención, los voluntarios visitaron la unidad de nutrición y se tomaron muestras y medidas.

35 En cada visita se tomó una muestra de sangre en ayunas (~20 ml) y se usó para analizar un número de marcadores de riesgo (utilizando en todos kits comercialmente disponibles). Los marcadores estudiados fueron:

Perfil lipídico (colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL, triglicéridos y ácidos grasos no esterificados)

Resistencia a la insulina derivada de las medidas de glucosa en ayunas y la razón de insulina

Biomarcadores inflamatorios/trombóticos (incluyendo proteína C reactiva, e IL6)

40 Se tomaron una serie de medidas antropométricas a las 0, 12, 18 y 30 semanas (incluyendo peso, presión arterial y circunferencia de cintura) para determinar cualquier cambio.

Resultados

Características de referencia de los sujetos

Las características demográficas de la población de estudio se presentan en la Tabla 1.

45

Tabla 1. Características de referencia de los sujetos participantes en el estudio.

Características	Hombre (n=16)	Mujer (n=29)
Edad (años)	42,2±12,1	46,4±11,8
IMC (Kg/m ²)	30,7±5,3	32,1±6,3
Circunferencia de cintura (cm)	103,7± 11,0	99,2±14,5
Insulina en ayunas(pmol/L)	66,3±28,3	70,3±30,6
Glucosa en ayunas (mmol/L)	5,5±0,8	5,2±0,6
Presión Arterial Sistólica (mmHg)	127,9±10,1	125,9±15,8
Presión Arterial Diastólica (mmHg)	80,9±8,6	80,5±10,0
Colesterol Total (mmol/L)	6,3±1,5	6,2±1,2
Colesterol HDL (mmol/L)	1,3±0,4	1,4±0,3
TAG (mmol/L)	1,9±0,9	1,4±0,5

Efecto sobre la microbiota colónica

5 El consumo diario de 5,5 g de Biomuno™ (2,75g de GOS activo) mostró tras 6 semanas que daba como resultado un incremento significativo en la población bifidobacteriana comparado tanto con los niveles de Placebo (1 semana) ($p<0,05$) como con los de referencia ($p<0,05$) (Tabla 2). Después de 12 semanas de consumo, la ingesta de Bimuno™ dio como resultado un incremento significativo en las poblaciones de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* spp comparado con Placebo (12 semanas) ($p<0,0001$) y de referencia ($p<0,05$). Al mismo tiempo los niveles de las especies del grupo *Clostridium hystoliticum* y *Desulfovibrio* spp se redujeron significativamente comparados con los de Placebo (12 semanas) ($p<0,0001$) y de referencia ($p<0,05$) (Tabla 2).

10 En términos de cambios en las poblaciones de *Atopobium* spp, *C.coccoides/ E. rectale*, *E. cylindroides*, *E. hallii*, *Clostridium cluster IX*, *F. prausnitzii cluster*, *beta-Proteobacteria*, *Bacteroides* spp no se documentó un efecto significativo tampoco después de la ingesta de Bimuno™ o Placebo durante las 12 semanas del período de tratamiento.

15 Efecto sobre los biomarcadores de inflamación

Los resultados en los niveles de sIgA fecal (inmunoglobulina A secretora), calprotectina fecal y de biomarcadores inflamatorios sanguíneos (IL-6, CRP) durante los períodos de estudio (Placebo, Bimuno™) se muestran en la Tabla 3.

20 La ingesta diaria de Bimuno™ durante 12 semanas dio como resultado una reducción significativa tanto de inmunoglobulina A secretora ($p<0,05$ frente a Placebo; $p<0,01$ frente la referencia) como de calprotectina ($p<0,01$ frente Placebo; $p<0,05$ frente la referencia) (Tabla 3). Se determinó al mismo tiempo una reacción significativa en los niveles sanguíneos de la citoquina IL-6 pro-inflamatoria ($p<0,05$ frente Placebo; $p<0,05$ frente la referencia) y en el biomarcador inflamatorio proteína C reactiva ($p<0,05$ frente Placebo; $p<0,05$ frente la referencia) después de la ingesta diaria de Bimuno™ durante 12 semanas.

25 Efecto sobre los factores de riesgo de Síndrome Metabólico

30 La ingesta diaria de Bimuno™ durante 12 semanas dio como resultado una reducción significativa en los niveles de insulina en sangre ($p<0,05$ frente Placebo; $p<0,01$ frente la referencia), triglicéridos sanguíneos ($p<0,05$ frente placebo; $p<0,05$ frente la referencia), colesterol total ($p<0,05$ frente Placebo; $p<0,05$ frente la referencia) y la razón de colesterol total sobre colesterol HDL ($p<0,05$ frente Placebo; $p<0,05$ frente la referencia) indicando en su totalidad la reducción del riesgo de Síndrome Metabólico. (Tabla 4).

Conclusión

35 El suplemento con 5,5g de Bimuno™ (suministrando 2,75g de GOS activo) en una población con riesgo de desarrollar síndrome metabólico dio como resultado un cambio significativo en la composición de su microbiota colónica por el aumento de bacterias residentes beneficiosas del género *Bifidobacterium* y del género *Lactobacillus*, mientras disminuyen los niveles de bacterias perjudiciales tales como aquellas pertenecientes al subgrupo *C. hystoliticum* y bacterias reductoras de sulfato. Este cambio en la microbiota dio como resultado un

incremento en la resistencia de la colonización en el intestino reduciendo la inflamación colónica como se vio a través de la reducción de los niveles de calprotectina. Al mismo tiempo, los niveles aumentados de sIgA sugerirían una mejor función barrera del epitelio que, en combinación con la reducida inflamación colónica, podría dar como resultado la reducción de los niveles de los biomarcadores inflamatorios en el huésped (IL-6, CRP).

5

Esta protección conjunta a través de las mejoras en la composición de la microbiota colónica y la función barrera intestinal parece tener un efecto beneficioso en los niveles de insulina, colesterol y triglicéridos que son factores de riesgo conocidos del síndrome metabólico.

10 Tabla 2. Cambios en los números (Log₁₀) de varios grupos bacterianos monitorizados durante los períodos de estudio (Placebo, Bimuno™), como se determinó mediante hibridación fluorescente in situ (FISH)

	Placebo		5,5g Bimuno™	
	Semana 6	Semana 12	Semana 6	Semana 12
<i>Bifidobacterium</i> spp	0,17±0,13	0,3±0,19	0,78±0,23*	1,13±0,29*
<i>Lactobacillus</i> – <i>Enterococcus</i> spp	-0,04±0,09	-0,12±0,18	0,24±0,15	0,43±0,22*
Grupo <i>C. hystoliticum</i>	0,15±0,11	0,23±0,07	0,12±0,21	-0,61±0,24*
<i>Desulfovibrio</i> spp	0,02±0,09	-0,03±0,11	-0,04±0,07	-0,63±0,17*

*significativamente diferente de la referencia (p<0,05)

Tabla 3. Cambios en los niveles de biomarcadores de inflamación fecales y sanguíneos durante los períodos de estudio (Placebo, Bimuno™)

	Placebo		5,5g Bimuno™	
	Semana 6	Semana 12	Semana 6	Semana 12
sIgA (µg/g heces)	NA	-230±243	NA	902±214*
Calprotectina (µg/g heces)	2,57±4,03	2,58±3,28	-2,91±3,97	-9,61±3,27*
IL-6 (ng/ml)	NA	7,97±13,01	NA	-33,34±12,9*
Proteína C Reactiva (ng/ml)	0,46±0,42	0,75±0,40	0,66±0,39	-1,56±0,41*

*significativamente diferente de la referencia (p<0,05)

15 Tabla 4. Cambios en los niveles de insulina, TAG y colesterol después de 12 semanas de suplementación de Placebo o Bimuno™

	Placebo		5,5g Bimuno™	
	Semana 6	Semana 12	Semana 6	Semana 12
Insulina (pmol/L)	5,15±3,14	7,42±2,89	-0,02±0,07	-10,37±3,04*
Triglicéridos (mmol/L)	0,09±0,08	-0,03±0,09	-0,08±0,09	-0,79±0,11*
Colesterol total (mmol/L)	0,14±0,11	0,05±0,06	-0,10±0,08	-0,39±0,12*
Colesterol Total:HDL	0,01±0,04	-0,06±0,09	-0,19±0,08	-0,44±0,1*

*significativamente diferente de la referencia (p<0,05)

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos que comprende disacáridos Gal (β 1-3)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal; Gal (β 1-6)-Gal; Gal (α 1-6)-Gal; trisacáridos Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal (β 1-4)-Glc; tetrasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc y pentasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc para uso en un método para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar síndrome metabólico.
5
2. La composición para el uso según la reivindicación 1, para uso en un método para prevenir o reducir el riesgo de trastornos cardiovasculares tales como enfermedad arterial coronaria, enfermedad cardíaca coronaria, infarto cardíaco e ictus.
3. La composición para el uso según la reivindicación 1 o reivindicación 2, que se presenta en forma de polvo liofilizado, forma de jarabe o forma de pastilla.
10
4. La composición para el uso según la reivindicación 3, que está en forma de polvo liofilizado y comprende de 1,35g a 9,6g de galactooligosacacáridos en 2,75g a 20g de la composición del polvo, preferiblemente de 1,96g a 4,9g de galactooligosacáridos en 4g a 10g del polvo, lo más preferiblemente 2,7g de galactooligosacáridos en 5,5g del polvo.
5. La composición para el uso según la reivindicación 3, que está en forma de jarabe y comprende de 1,35g a 9,6g de galactooligosacáridos en 3,55g a 25,29g del jarabe, preferiblemente de 19,6g a 4,9g de galactooligosacáridos en 5,16g a 12,9g del jarabe, lo más preferiblemente 2,7g de galactooligosacáridos en 7,25g del jarabe.
15
6. La composición que comprende una mezcla de galactooligosacáridos que comprende disacáridos Gal (β 1-3)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal; Gal (β 1-6)-Gal; Gal (α 1-6)-Gal; trisacáridos Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc; Gal (β 1-3)-Gal (β 1-4)-Glc; tetrasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc y pentasacárido Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-6)-Gal (β 1-4)-Glc para el uso según la reivindicación 1 para bajar los niveles de colesterol y triglicéridos en la sangre.
20