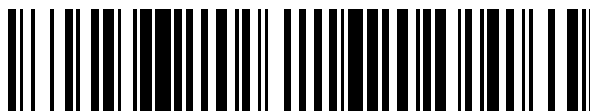


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 022**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/064** (2006.01)

**A61K 36/899** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2012 E 12722358 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.11.2015 EP 2709640**

54 Título: **Uso de germen de trigo fermentado en el tratamiento de síndrome de colon irritable**

30 Prioridad:

**20.05.2011 GB 201108560**

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

**17.03.2016**

73 Titular/es:

**3CH LTD (100.0%)  
Bahnhof Strasse 40  
7002 Chur, CH**

72 Inventor/es:

**RASO, ERZSEBET y  
LAPIS, KAROLY**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 564 022 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 germen de trigo fermentado en el tratamiento de síndrome de colon irritable

5 La presente solicitud se refiere al uso nuevo de un producto de germen de trigo fermentado conocidos en el tratamiento de síndrome de colon irritable.

La patente WO 99/08694 describe un producto que se obtiene por la fermentación de germen de trigo con levadura de Baker (*Saccharomyces cerevisiae*) que se encontró que tiene un efecto inmunoestimulador e inhibidor de metástasis. El producto contiene 0,12-0,52 mg/g de materia seca 2, 6, -dimetoxi-p-benzoquinona (2.6-DMBQ). Este producto, conocido comercialmente como Avemar™ también se ha usado como un agente antiinflamatorio para evitar o tratar o aliviar estados inflamatorios en particular artritis reumatoide como se describe en la patente WO 2004/014406. Se encontró que el producto incrementa los niveles de citoquinas incluyendo TNF $\alpha$ . La patente WO 2004/014146 también describe el uso de este producto como un complemento dietético para animales. Proporciona ganancia más rápida de peso corporal así como mejora la resistencia a enfermedades infecciosas.

Los tratamientos generales para síndrome de colon irritable incluyen inmunosupresión tal como administrar antagonistas de TNF $\alpha$ . El producto de germen de trigo fermentado ha mostrado previamente que eleva los niveles de TNF $\alpha$  durante el tratamiento de artritis reumatoide. Sin embargo, sorprendentemente ahora se ha encontrado que es eficaz en el tratamiento de síndrome de colon irritable.

Así en un primer aspecto la presente invención proporciona un material seco fermentado que deriva del líquido fermentado que se obtiene por fermentación de germen de trigo con *Saccharomyces cerevisiae* en un medio acuoso o sus fracciones para usar en el tratamiento de síndrome de colon irritable.

25 Como se usa en la presente memoria "síndrome de colon irritable" (SCI) se refiere a un estado inflamatorio del colon e intestino delgado. Esto incluye la enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis diverticular, enfermedad de Behcet y colitis indeterminada.

30 El material seco fermentado se obtiene mediante los métodos descritos en la patente WO 99/008694 o sus fracciones tales como los descritos en la patente WO 2010/100515. Típicamente, el germen de trigo fermenta con levadura de Baker (*Saccharomyces cerevisiae*) en agua, durante aproximadamente 10-24 horas, preferentemente 15-20 horas o aproximadamente 18 horas. También se pueden usar otras cepas de levadura tales como *Saccharomyces bayanus* y *Saccharomyces boulardii*, y otros microorganismos usados en fermentación de alimentos. La fermentación se lleva a cabo a aproximadamente 25-35°C, preferentemente aproximadamente 30°C. La proporción de peso entre el germen de trigo y la levadura es 4:1 – 2:1, preferentemente aproximadamente 3:1. La proporción de peso entre la materia seca y agua es 1:6 – 1:12, preferentemente aproximadamente 1:9. Después de la fermentación los sólidos se eliminan por un método adecuado, por ejemplo centrifugación durante 5-15 minutos a 2.000-4.500 l min, preferentemente aproximadamente 3.000 l min. La parte líquida después se seca de un modo apropiado, por ejemplo mediante liofilización o secado por pulverizado. El producto se vende comercialmente bajo la marca comercial Avemar™. El producto se caracteriza por que contiene 0,12-0,52 mg/g de materia seca 2, 6, -dimetoxi-p-benzoquinona (2.6-DMBQ). El cromatograma HPLC del producto se muestra en la patente WO 99/008694.

45 Alternativamente se pueden usar fracciones del producto de germen de trigo fermentado obtenible mediante los métodos descritos en la patente WO 99/008494. Estos incluyen las fracciones descritas en la patente WO 2010/100515. El material seco típicamente se disuelve en alcohol, preferentemente metanol o etanol, y después se lava y se filtra con alcohol. Este proceso se puede repetir con el filtrado hasta que la fase alcohólica se hace incolora. Las fases alcohólicas se unen y se evaporan para formar una fracción conocida como A2 en la patente WO 2010/100515. Esto es una mezcla de material. El filtrado (fracción designada A1 en la patente WO 2010/100515) se puede suspender en agua, centrifugar, decantar el sobrenadante, y añadir disolvente orgánico. El disolvente orgánico preferentemente es hexano, etilacetato, o un alcohol, tal como metanol o etanol. El precipitado se puede filtrar, y secar. La fracción así producida se llamó fracción E en la patente WO 2010/100515 y contenía 15-25% del material seco inicial. La fracción E se puede disolver en agua, filtrar, y a) si se desea, evaporar la disolución hasta secarse (fracción ES), o b) la disolución puede ser gel cromatográfico, y el material que queda en la columna se puede eluir y liofilizar (fracción L). Se pueden usar geles con base de hidratos de carbono, preferentemente los basados en agarosa, más preferentemente, materiales de filtración en gel con base de agarosa-dextrano, para cromatografía de filtración en gel. La columna se puede lavar con un eluyente, como ácido diluido, preferentemente ácido hidroclorehídrico, ácido fórmico, ácido acético, vinagre de manzana, vinagre de vino, ácido trifloro acético, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido málico, ácido ascórbico, preferentemente ácido hidroclorehídrico 0,1 N, o bases, preferentemente, hidróxidos alcalinos, hidróxidos alcalino térreos, óxidos, hidróxido amónico. Siempre que el eluyente del ácido o base no se evapore, la disolución se puede neutralizar mediante el uso del ácido o base apropiado, y el precipitado de sal se puede eliminar, usando métodos adecuados conocidos por la persona experta en la técnica. La fracción L eluida se puede secar mediante secado al vacío, o liofilización, preferentemente mediante liofilización.

65

El material seco fermentado de la invención se formula como una composición farmacéutica que también puede contener uno o más excipientes, diluyentes o vehículos. Preferentemente la composición además comprende maltodextrina.

5 Las composiciones se pueden adaptar para administración por cualquier vía apropiada, por ejemplo mediante la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo subcutáneo, intramuscular, intravenoso o intradérmico). Tales formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo asociando el ingrediente activo con el(los) vehículo(s) o excipiente(s).

10 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral se pueden presentar como unidades separadas tales como cápsulas o tabletas; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas aceite en agua o emulsiones líquidas agua en aceite.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica se pueden formular como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, espráis, aerosoles o aceites.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal se pueden presentar como supositorios o enemas.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal en las que el vehículo es un sólido incluye un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula por ejemplo en el intervalo de 20 a 500 micrómetros que se administra de la manera en que se toma el tabaco de aspirar, es decir, mediante inhalación rápida a través del paso nasal desde un recipiente del polvo que se mantiene cerca de la nariz. Formulaciones adecuadas en las que el vehículo es un líquido, para administración como un spray nasal o como gotas nasales, incluyen disoluciones acuosas o de aceite del ingrediente activo.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración por inhalación incluyen partículas finas de polvo o vapor que se pueden generar por medio de varios tipos de aerosoles presurizados con dosis medida, nebulizadores o insufidores.

35 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen disoluciones de inyección estéril acuosas o no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, y solutos que dejan la disolución isotónica con la sangre del recipiente de destino; y suspensiones estériles acuosas o no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes unidos o multidosis, por ejemplo ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en estado seco congelado (liofilizado) que solo requiere la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo agua para inyecciones, inmediatamente antes de usar. Se pueden preparar disoluciones y suspensiones de inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y tabletas estériles.

45 Se debería entender que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones también pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que tienen relación con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo los adecuados para administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

La unidad de dosis de formulaciones preferentes son las que contienen una dosis o subdosis diaria, o su fracción apropiada, o un ingrediente activo. Dosis diarias apropiadas están entre 0,001-100 g, preferentemente 0,01-50 g, más preferentemente 0,1-40 g por kilo de peso corporal.

50 También se describe un método de tratar y/o evitar un síndrome de colon irritable que comprende administrar a un sujeto que lo necesita el material seco fermentado que deriva del líquido fermentado obtenible mediante fermentación de germen de trigo con *Saccharomyces cerevisiae* en un medio acuoso.

55 También se describe el uso del material seco fermentado que deriva del líquido fermentado obtenible mediante fermentación de germen de trigo con *Saccharomyces cerevisiae* en un medio acuoso en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de un síndrome de colon irritable.

#### EJEMPLOS

60 Los ejemplos se refieren a las siguientes figuras.

La figura 1 muestra los efectos de compuestos probados sobre pérdida de peso en animales después de 3 días de tratamiento TNBS.

La figura 2 muestra el porcentaje de la sección inflamada del intestino en proporción al segmento intestinal completo.

65 La figura 3 muestra la gravedad de la inflamación de la membrana mucosa.

La figura 4 compara el peso del intestino después del tratamiento.

La figura 5 muestra los niveles de TNF $\alpha$  después del tratamiento.  
La figura 6 muestra los niveles de mieloperoxidasa (mU/g).

MÉTODO

Nombre del grupo	Tratamiento
Abs. control	Grupo sin tratar
2, 4, 6 TNBS	2, 4, 6 TNBS: 10 mg/rata
Avemar	2, 4, 6 TNBS + grupo tratado con Avemar 3 g/kg/día p.o. tratamiento
Infliximab	2, 4, 6 TNBS + infliximab 3,0 mg/kg/día
SASP	2, 4, 6 TNBS + sulfasalacina 50 mg/kg/día

Se trataron ratas con Avemar en polvo durante 10 días, después se indujo síndrome de colon irritable mediante la inyección de TNBS (ácido 2, 4, 6-trinitrobenceno sulfónico) en disolución. Se les dio Infliximab en el día 10, 6, 3 y día cero antes del tratamiento con TNBS. Durante el método de inducción se introdujo TNBS (10 mg/rata) después de 12 horas de ayuno en anestésico de éter en el colon. El método es el modelo aceptado en todo el mundo para inducir y estudiar el síndrome de colon irritable (inducción de colitis TNBS en ratones Scheiffel F, Fuss IJ. Curr Protoc Immunol, agosto 2002; capítulo 15).

El tratamiento Avemar continuó durante 3 días adicionales después los animales se sacrificaron por dislocación cervical y se investigaron los efectos de Avemar y se analizaron seis parámetros:

1. La pérdida de peso de los animales entre la inducción TNBS y el final. Debido a la grave inflamación causada por TNBS los animales pierden peso significativamente. Si Avemar reduce el nivel de inflamación la pérdida de peso esperada debería ser menor.
2. El porcentaje de la sección inflamada del intestino en proporción al segmento de intestino total. TNBS debería destruir la membrana de la mucosa del intestino pero si Avemar es eficaz, el área de la superficie intestinal dañada, la lesión debería ser menor.
3. La gravedad de la inflamación de la membrana de la mucosa. Similar a 2) si Avemar es eficaz la inflamación también debería ser menos grave. La escala se midió de 0-11, donde 0 = sin inflamación y 11 = la úlcera inflamatoria es al menos de 7 cm de largo.
4. El peso del intestino. El síndrome de colon irritable inducido TNBS se asocia con hinchazón del intestino, aumentando así en peso. Si Avemar es eficaz, la hinchazón debería ser menos pronunciada dando como resultado un peso menor.
5. Nivel de TNF-alfa. Según el estado actual de la técnica de tratamiento de SCI se debería usar inhibidor de enzima TNF-alfa, debido a que el nivel de TNF-alfa está inversamente asociado con la gravedad del síndrome. Si Avemar es un tratamiento eficaz se espera que Avemar también reduzca el nivel de TNF-alfa en el tejido.
6. Nivel de mieloperoxidasa en tejido intestinal. Como un proceso normal durante la irritación, granulocitos neutrófilos migran al intestino. La mieloperoxidasa es una enzima que se encuentra en granulocitos, por lo tanto la abundancia de la actividad de la enzima mieloperoxidasa está en relación con la presencia de granulocitos, y por tanto con el nivel de irritación. Los niveles reducidos de mieloperoxidasa deberían indicar que Avemar reducía el nivel de irritación y la migración de granulocitos en el intestino no era tan intensa.

Resultados

Todas las diferencias entre Avemar en polvo y en tableta eran significativas ( $p < 0,05$ ) frente a animales tratados TNBS. No se pudo medir diferencia significativa entre Avemar (en polvo o tableta) y Infliximab.

La figura 1 muestra la pérdida de peso de los animales entre la inducción TSBS y el final, 3 días después del tratamiento TNBS. Avemar (tanto en forma de polvo como en tableta) podría prevenir significativamente la pérdida de peso, comparado con Infliximab.

El porcentaje de la sección irritada del intestino en proporción al segmento de intestino total se muestra en la figura 2. Avemar (tanto en polvo como en tableta) podría reducir significativamente el área de irritación en el segmento de intestino afectado. No había diferencia significativa entre los efectos de Avemar e Infliximab.

La figura 3 muestra la gravedad de la irritación de la membrana de la mucosa. Avemar (tanto en polvo como en tableta) podría reducir significativamente la gravedad de la irritación en el segmento de intestino afectado. No había diferencia significativa entre los efectos de Avemar e Infliximab.

El cambio en el peso del intestino se muestra en la figura 4. Avemar (tanto en polvo como en tableta) podría reducir significativamente el peso del intestino, reduciendo así el nivel de irritación. No había diferencia significativa entre los efectos de Avemar e Infliximab.

Los niveles de TNF-alfa después del tratamiento se muestran en la figura 5. Avemar (tanto en polvo como en tableta) podría inhibir eficazmente TNF-alfa comparado con Infliximab.

La figura 6 muestra los niveles de mieloperoxidasa. Avemar (tanto en polvo como en tableta) podría reducir el nivel de mieloperoxidasa indicando la reducción significativa de infiltración de granulocitos en la membrana de la mucosa del intestino. No había diferencia significativa entre los efectos de Avemar e Infliximab.

**REIVINDICACIONES**

1. Un material seco fermentado que deriva del líquido fermentado que se obtiene por fermentación de germen de trigo con *Saccharomyces cerevisiae* en un medio acuoso o sus fracciones para usar en el tratamiento de síndrome de colon irritable.
2. El material seco fermentado de la reivindicación 1 en el que dicho síndrome de colon irritable se selecciona de enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis diverticular, enfermedad de Behcet y colitis indeterminada.

FIGURA 1

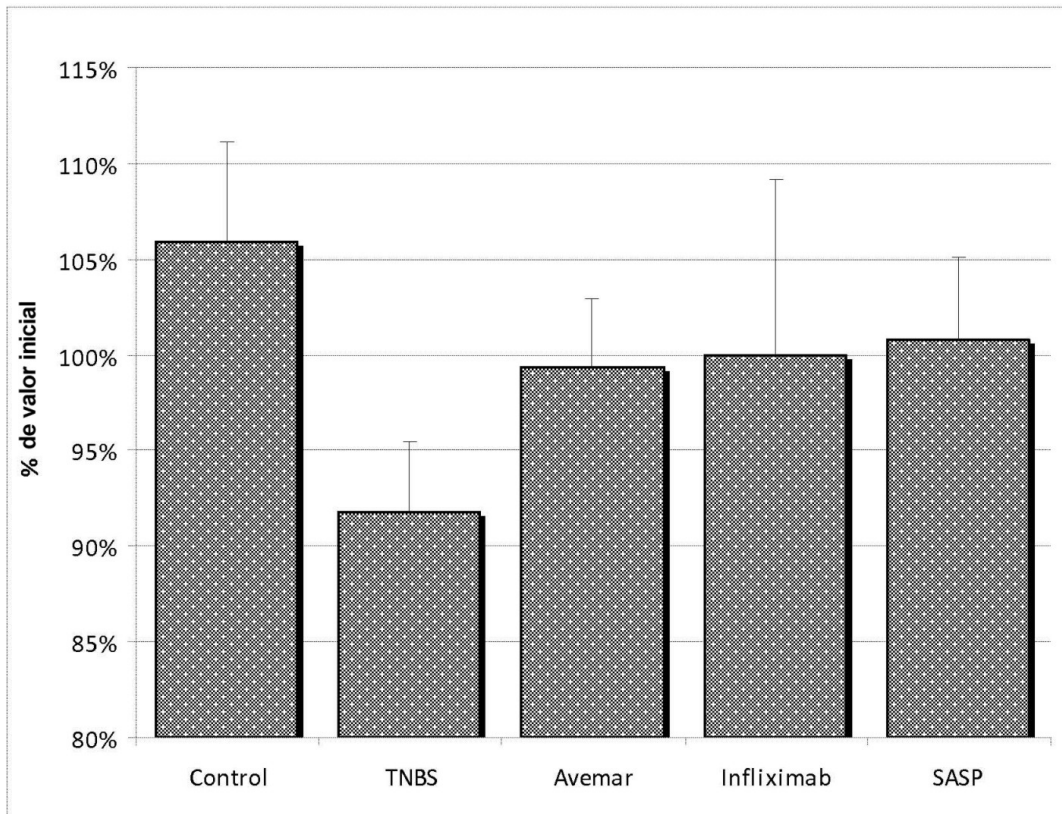


FIGURA 2

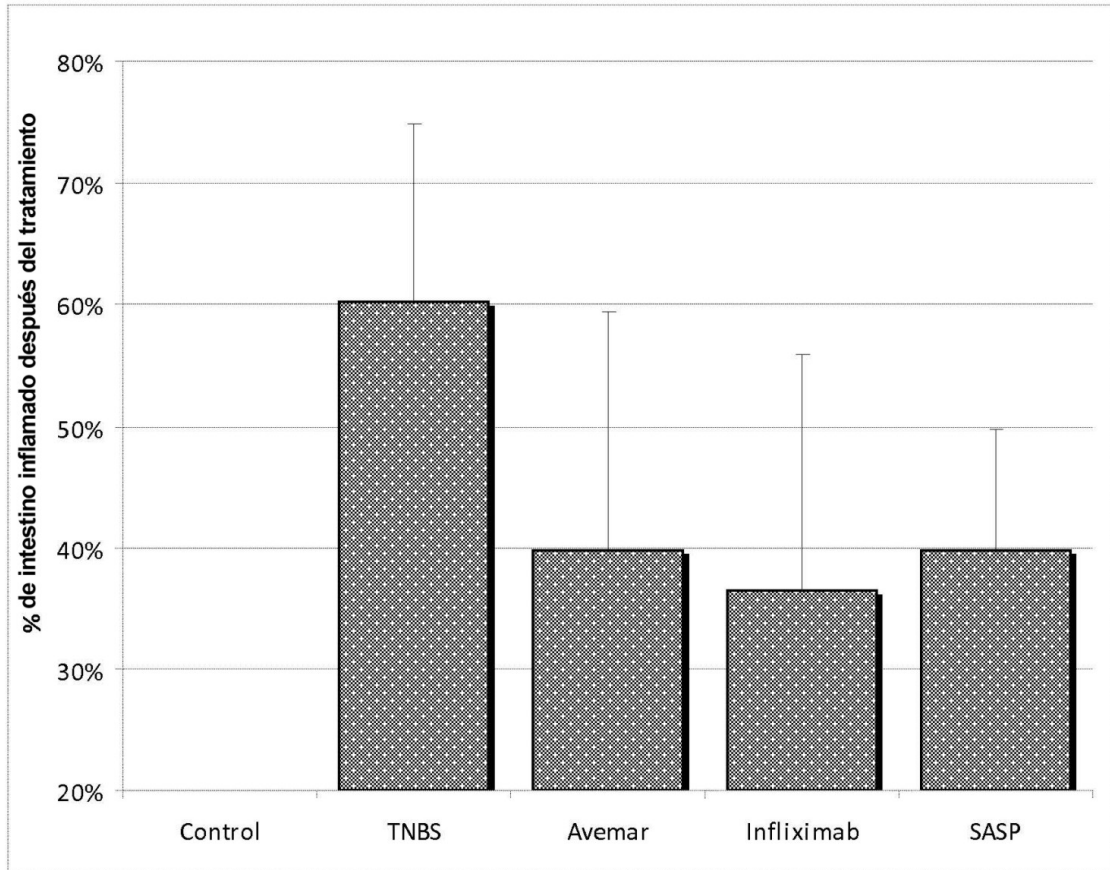
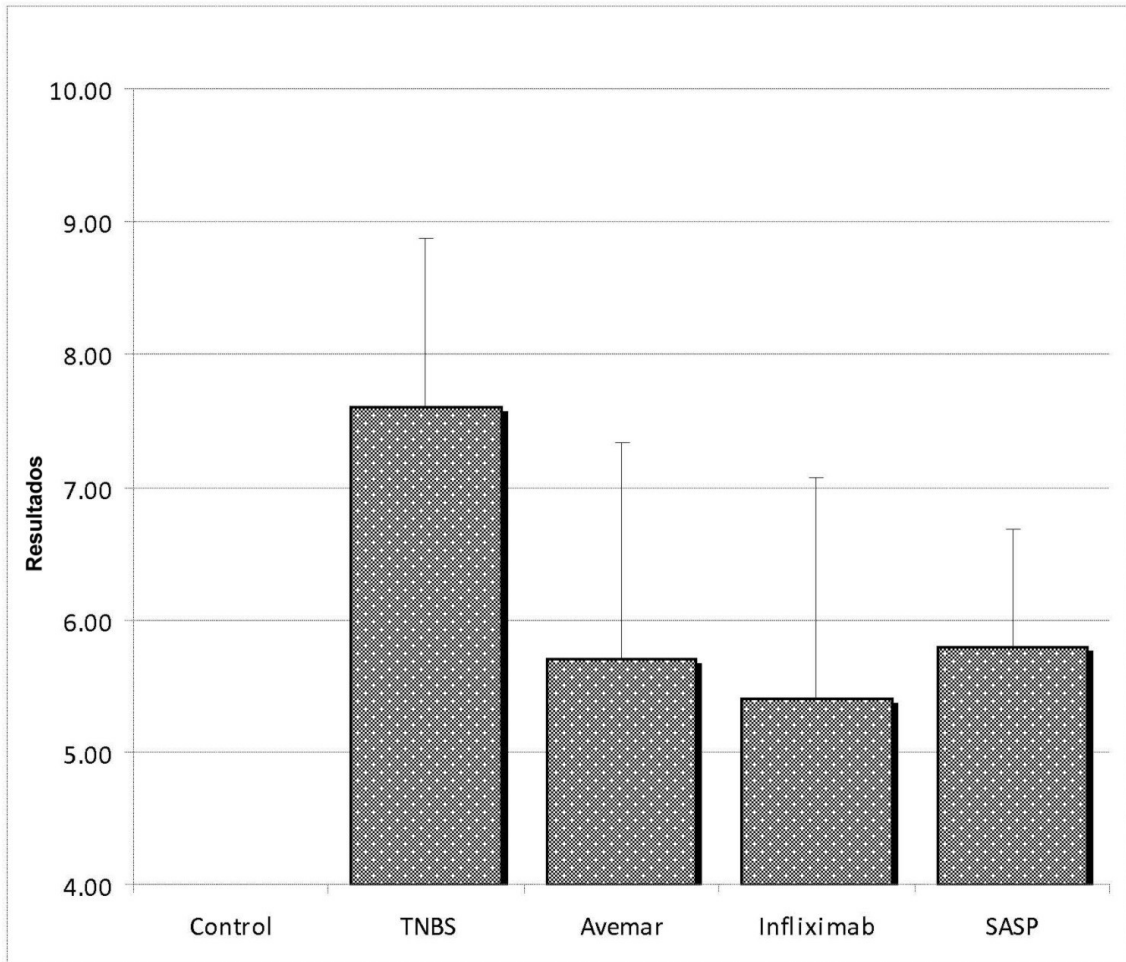




FIGURA 3



**FIGURA 4**

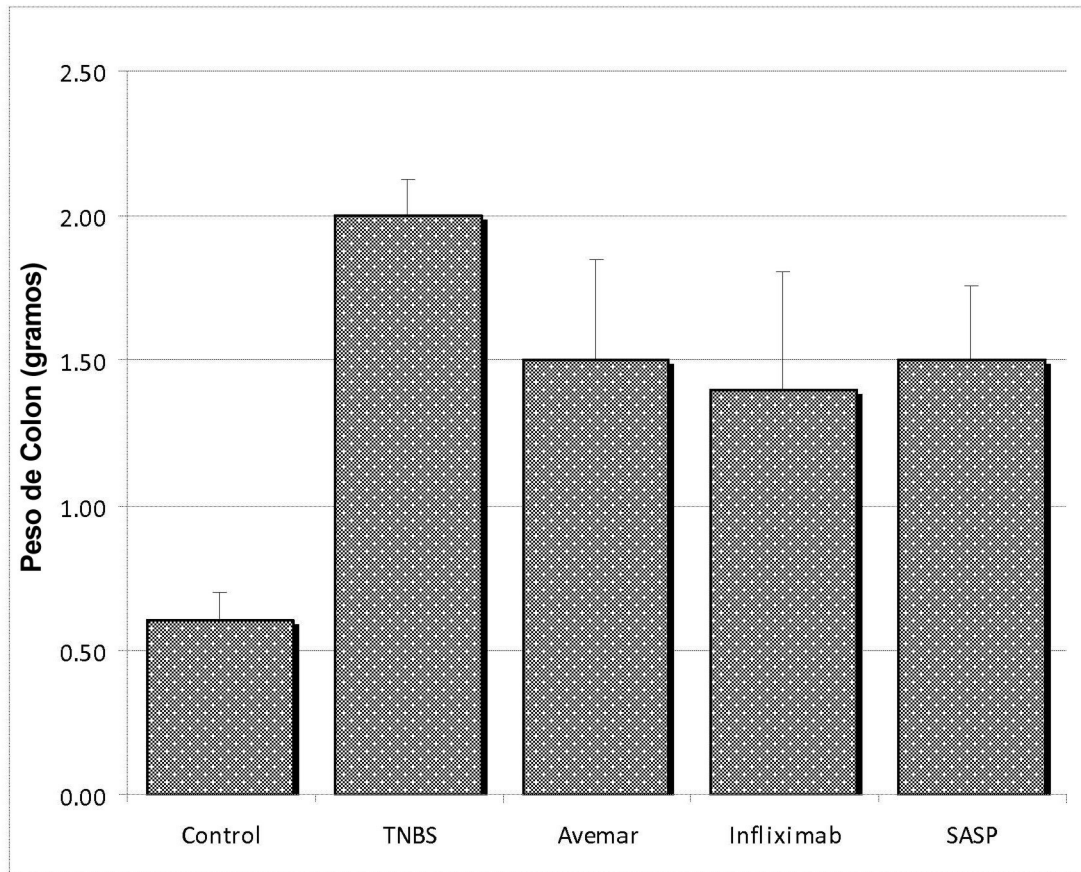
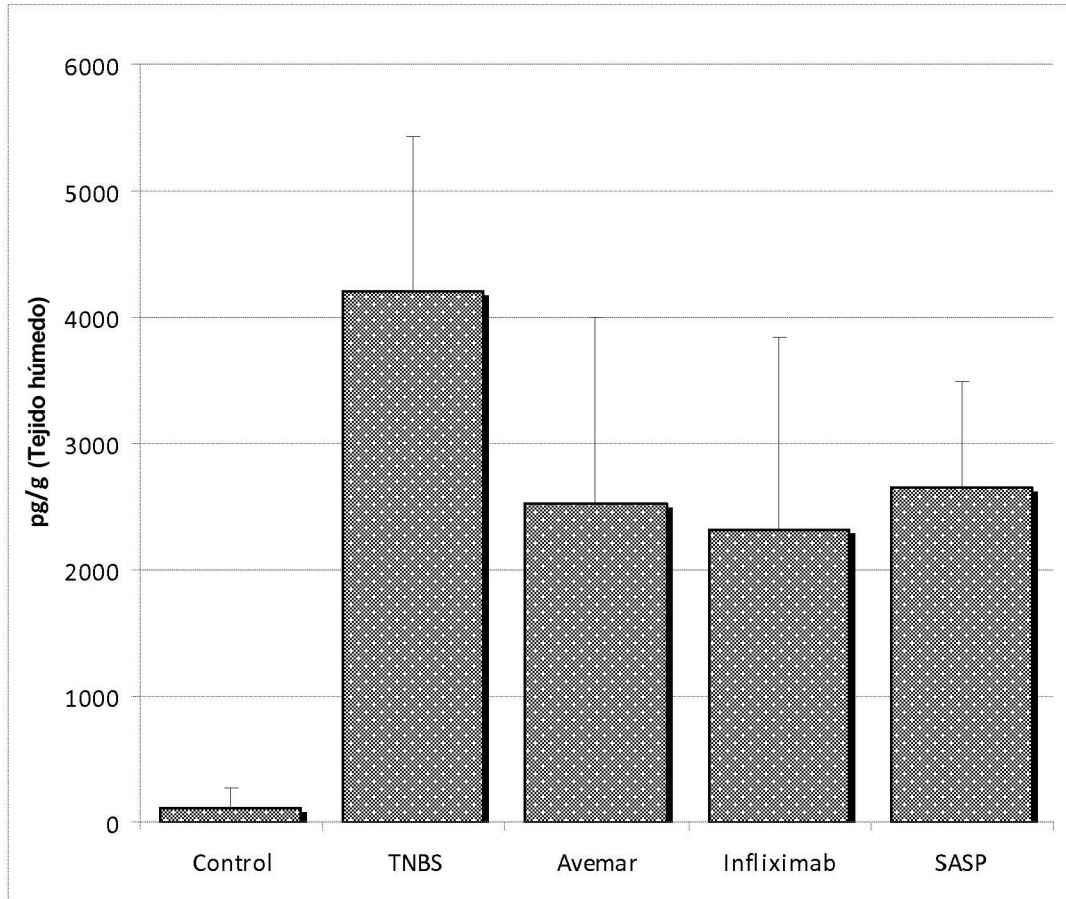


FIGURA 5



**FIGURA 6**

