

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 367**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/10** (2006.01)  
**A61K 31/22** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61P 3/04** (2006.01)  
**A61P 3/10** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2009 PCT/US2009/040766**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **25.02.2010 WO10021766**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2009 E 09789596 (5)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.10.2017 EP 2328858**

54 Título: **Bebida que comprende éster de hidroxibutirato y uso médico de la misma**

30 Prioridad:

**21.08.2008 US 90751 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**19.02.2018**

73 Titular/es:

**OXFORD UNIVERSITY INNOVATION LIMITED (50.0%)**  
**Buxton Court, 3 West Way, Botley**  
**Oxford OX2 0JB, GB y**  
**THE GOVT. OF U.S.A. AS REPRESENTED BY THE**  
**SECRETARY OF THE DEPARTMENT OF HEALTH**  
**AND HUMAN SERVICES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CLARKE, KIERAN y**  
**VEECH, RICHARD LEWIS**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 655 367 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

Bebida que comprende éster de hidroxibutirato y uso médico de la misma

**Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende ésteres de hidroxibutirato, que eleva los niveles en sangre de cuerpos de cetona, y a usos médicos de dichos ésteres.

**Antecedentes de la invención**

Los cuerpos de cetona son compuestos químicos que se producen en el hígado a partir de los ácidos grasos liberados desde el tejido adiposo. Los cuerpos de cetona en sí pueden utilizarse como fuente de energía en la mayoría de los tejidos del cuerpo. El consumo de compuestos que estimulan los niveles en sangre de cuerpos de cetona puede suponer diversos beneficios clínicos, entre los que se incluyen la potenciación del rendimiento físico y cognitivo y el tratamiento de afecciones cardiovasculares, diabetes, enfermedades neurodegenerativas y epilepsia.

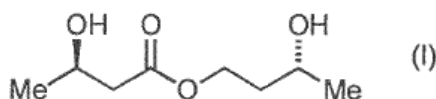
Los cuerpos de cetona incluyen (*R*)-3-hidroxibutirato y acetoacetato. Tal como se explica en la patente internacional WO2004/108740, en teoría, se podría administrar estos compuestos directamente para conseguir niveles elevados de cuerpos de cetona en un sujeto. Sin embargo, la administración directa de los compuestos no resulta práctica y es potencialmente peligrosa. Por ejemplo, la administración directa de (*R*)-3-hidroxibutirato o acetoacetato en su forma de ácido libre puede tener como resultado una acidosis grave tras la rápida absorción desde el tracto gastrointestinal. La administración de la sal sódica de estos compuestos en cantidades no reguladas también es inconveniente debido a la sobrecarga de sodio potencialmente peligrosa que puede acompañar a la administración de cantidades terapéuticamente pertinentes de los compuestos.

Frente a estos antecedentes, la patente internacional WO2004/108740 revela derivados de (*R*)-3-hidroxibutirato que sirven como precursores de los cuerpos de cetona, tales como acetoacetato y (*R*)-3-hidroxibutirato y que, por tanto, elevan las concentraciones en sangre de cuerpos de cetona cuando se administran a un sujeto. Entre los ejemplos de derivados se incluyen ésteres, como por ejemplo, ésteres derivados de diversos alcoholes. La patente internacional WO2004/108740 revela además el uso de estos derivados para tratar trastornos metabólicos, como deficiencia de insulina y resistencia a la insulina, y como suplementos nutricionales para aumentar el rendimiento físico.

En la patente internacional WO04/105742 se enseña que es posible utilizar compuestos que reducen el nivel de ácidos grasos libres en la circulación en el plasma de un sujeto para tratar el deterioro muscular o la fatiga. Cuerpos de cetona, como ésteres de cuerpo de cetona, son ejemplos dados de dichos compuestos.

**Sumario de la invención**

Se ha descubierto ahora de manera sorprendente que un enantiómero en particular de un éster en particular de 3-hidroxibutirato es un precursor eficaz y agradable al paladar del (3*R*)-hidroxibutirato de cuerpo de cetona. En consecuencia, la presente invención proporciona una bebida que se puede digerir por vía oral que comprende un compuesto 3-hidroxibutirato de 3-hidroxibutilo que está enantioméricamente enriquecido con respecto a (3*R*)-hidroxibutirato de (3*R*)-hidroxibutilo de fórmula (I):



La invención proporciona además una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, y un vehículo dietético o farmacéuticamente aceptable.

(3*R*)-hidroxibutirato de (3*R*)-hidroxibutilo reduce los niveles en plasma de ácidos grasos. La invención proporciona por tanto una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en el tratamiento de una afección causada, exacerbada o asociada con niveles en plasma elevados de ácidos grasos libres en un sujeto animal o humano.

En una realización, la invención proporciona además una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en el tratamiento de una afección ligada a una pérdida o ganancia de peso. Por tanto, el compuesto se puede utilizar para tratar la obesidad u otras afecciones de sobrepeso, promover la pérdida de peso, mantener un peso saludable o disminuir la relación entre el músculo graso y el músculo magro en un sujeto (que puede ser un sujeto sano o un sujeto comprometido). El compuesto puede utilizarse como suplemento de la dieta.

La invención proporciona además una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso para promover la alerta y mejorar la función cognitiva o para tratar una disfunción cognitiva.

La invención proporciona asimismo una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en el tratamiento, prevención o reducción de los efectos de neurodegeneración, toxicidad de radicales libres, afecciones hipotóxicas o hiperglucemia.

### **Breve descripción de las figuras**

- 5 La **Figura 1** muestra un gráfico del peso corporal diario (en gramos/rata/día) de ratas alimentadas con una dieta de hidratos de carbono, grasa o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 3.
- La **Figura 2** muestra un gráfico del consumo de alimento diario (en gramos/rata/día) para ratas alimentadas con una dieta de hidratos de carbono, grasa o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 3.
- 10 La **Figura 3** contiene micrografías que presentan los niveles de cuerpos celulares FNDC positivos en el área del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo y en el hipotálamo de ratas tratadas durante 14 días con una dieta de grasas, hidratos de carbono o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 5. Se observa un número significativamente mayor de cuerpos de celulares FNDC positivos en el NPV de la rata tratada con la dieta de cetona en comparación con las ratas tratadas con una dieta de grasas e hidratos de carbono. Se realizaron observaciones similares en el hipocampo de las ratas tratadas con cetonas.
- 15 La **Figura 4** presenta micrografías que presentan los niveles de cuerpos celulares MC4R positivos en el área del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo de ratas tratadas durante 14 días con una dieta de grasas, hidratos de carbono o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 5. Se observa un número significativamente mayor de cuerpos celulares MC4R positivos en las regiones magnocelular posterior (pm) y parvocelular medial (mpd) del NPV en las ratas tratadas con la dieta de cetona y la dieta de hidratos de carbono, con respecto a las ratas tratadas con la dieta de grasas.
- 20 La **Figura 5** Presenta imágenes en aumento de las micrografías de la Figura 5. Las micrografías presentan la presencia de un área significativamente más densa de cuerpos celulares MC4R positivos en el NPV de ratas con una dieta de cetona o una dieta hidratos de carbono (CHO) en comparación con las ratas con la dieta de grasas.
- 25 La **Figura 6** contiene micrografías que presentan los niveles de CART en el área posterior del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo de ratas tratadas durante 14 días con una dieta de grasas, hidratos de carbono o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 5. Se observa un número significativamente mayor de cuerpos celulares CART positivos en los NPV de las ratas tratadas con dietas de cetona e hidratos de carbono con respecto a las ratas tratadas con la dieta de grasas. El máximo nivel de CART se observa en el NPV de las ratas tratadas con la dieta de cetona.
- 30 La **Figura 7** presenta micrografías que presentan los niveles de CART en las áreas del núcleo ventromedial (VMH), núcleo arqueado (ARC) y eminencia media (ME) del hipotálamo de ratas tratadas durante 14 días con una dieta de grasas, hidratos de carbono o el compuesto de fórmula (I) ("cetona") en el ensayo que se describe en el Ejemplo 5. El máximo número de cuerpos celulares CART positivos en estas áreas se observa en las ratas tratadas con la dieta de cetona.
- 35 La **Figura 8** presenta imágenes en aumento de cada una de las micrografías de la Figura 7. Dichas imágenes en aumento muestran claramente la presencia de un número significativamente mayor de cuerpos celulares CART en el NPV de las ratas con la dieta de cetona con respecto a las ratas con dietas de grasas e hidratos de carbono.
- 40 La **Figura 9** presenta otras imágenes en aumento de las micrografías de las Figuras 7 y 9, que muestran que los NPV de las ratas tratadas con dieta de cetona tienen la máxima densidad de cuerpos positivos CART positivos.

### **Descripción detallada de la invención**

45 El compuesto de fórmula (I) es 3-hidroxiobutirato de 3-hidroxiobutilo enriquecido enantioméricamente con respecto al enantiómero (3R, 3R'). El término "enriquecido" tal como se emplea en el presente documento significa que el nivel de isómero enriquecedor es superior al nivel en el que se produciría normalmente el isómero en una mezcla racémica. Cuando se hace referencia al porcentaje de enriquecimiento, el isómero enriquecedor constituye el porcentaje del total de 3-hidroxiobutirato de 3-hidroxiobutilo presente. Generalmente, el 3-hidroxiobutirato de 3-hidroxiobutilo en la presente invención está enriquecido enantioméricamente en al menos 90 %, preferentemente 95 % con respecto a (3R)-hidroxiobutirato de (3R)-hidroxiobutilo. Es decir, el 3-hydroxybutyl 3- hidroxiobutirato total presente, en al menos 90 % y preferentemente 95 % es el isómero (3R)-hidroxiobutirato de (3R)-hidroxiobutilo. En otra realización el 3-hidroxiobutirato de 3-hidroxiobutilo puede comprender al menos 97 %, por ejemplo 98 % o 99 %, del enantiómero (3R, 3R').

55 El compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, se puede preparar a través de un proceso que comprende llevar a cabo una reacción de transesterificación entre (3R)-hidroxiobutirato de etilo y (R)-1,3-butanodiol en presencia de una enzima lipasa. La reacción se lleva a cabo normalmente a aproximadamente 40 °C durante un período de tiempo de aproximadamente 96 horas. En el Ejemplo 1, más adelante, se describe un ejemplo del procedimiento. Normalmente, se somete el producto de reacción a destilación de lámina enjuagada (BPF). Esto comprende un paso desgasificante, un segundo paso de corte ligero para eliminar los materiales de partida y, a continuación, un paso final. Las condiciones del paso final son normalmente 145 °C a 240 Pa (1,8 Torr).

60

Una muestra de 3-hidroxi butirato de 3-hidroxi butilo enriquecida con respecto al enantiómero (3*R*, 3*R'*) proporciona niveles en sangre apreciablemente elevados de (3*R*)-hidroxi butirato, un cuerpo de cetona, cuando se consumen oralmente. El compuesto de fórmula (I) representa por lo tanto un medio eficaz para administrar (3*R*)-hidroxi butirato a un sujeto.

5 Hay dos ventajas en particular asociadas con la invención. En primer lugar, el enantiómero (3*R*, 3*R'*) es agradable al paladar y tiene un gusto menos amargo que otros cuerpos de cetona. Por lo tanto, es particularmente adecuado para su administración oral. Esto contrasta con muchos otros cuerpos de cetona y sus derivados y precursores, que presentan de forma notoria un mal sabor y por tanto resultan difíciles de tolerar cuando se toman por vía oral. En segundo lugar, el enantiómero (3*R*, 3*R'*) se escinde *in vivo* en la forma (3*R*)-hidroxi butirato y (*R*)-1,3-butanodiol. El (3*R*)-hidroxi butirato se libera inmediatamente proporcionando un efecto rápido tras la ingestión. El (*R*)-1,3-butanodiol se convierte en el hígado en (3*R*)-hidroxi butirato que se libera después en la sangre. En global, esto proporciona un perfil farmacocinético favorable, ya que se consiguen rápidamente los niveles elevados en sangre del (*R*)-3-hidroxi butirato deseado y después se sostienen durante un período de tiempo tras la ingestión del compuesto de fórmula (I).

15 El compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, reduce los niveles en plasma de ácidos grasos. Por lo tanto, se puede utilizar un compuesto de fórmula (I) para reducir el nivel de ácidos grasos libres que circulan en el plasma de un sujeto. Como tal, se puede utilizar para tratar una afección causada, exacerbada o asociada con niveles en plasma elevados de ácidos grasos libres en un sujeto humano o animal. Por lo tanto, es posible tratar a un sujeto humano o animal a través de un procedimiento que comprende la administración al mismo de una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende el compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido. De esta forma, es posible mejorar o aliviar la afección del sujeto.

20 Las afecciones causadas, exacerbadas o asociadas con niveles en plasma elevados de ácidos grasos libres incluyen, pero sin limitarse a ellas; enfermedades o trastornos neurodegenerativos, como por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, estados hipóxicos, como por ejemplo angina de pecho, cansancio físico extremo, claudicación intermitente, hipoxia, ictus e infarto de miocardio; estados resistentes a insulina, por ejemplo infección, estrés, obesidad, diabetes e insuficiencia cardíaca; y estados inflamatorios incluyendo infección y enfermedad autoinmune.

25 Además de reducir los niveles en plasma de ácidos grasos, un compuesto de fórmula (I) actúa sobre los centros del apetito en el cerebro. En particular, un compuesto de fórmula (I) aumenta los niveles de diversos neuropéptidos anorexigénicos (neuropéptidos reconocidos por estar asociados con un menor consumo de comida y una disminución del apetito) en los centros del apetito del cerebro e induce también niveles más altos de malonil CoA, un metabolito asociado con la disminución del apetito y el consumo de comida. La invención proporciona por tanto una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en el tratamiento de una afección ligada a una pérdida de peso o una ganancia de peso. Por ejemplo, el compuesto puede utilizarse para suprimir el apetito, tratar la obesidad, promover la pérdida de peso, mantener un peso saludable o disminuir la relación entre los músculos grasos y los magros en un sujeto. El sujeto en cada uno de estos casos puede ser un sujeto sano o un sujeto comprometido.

30 Un sujeto sano puede ser por ejemplo un individuo con un peso saludable para el que es importante el rendimiento físico y/o el aspecto físico. Entre los ejemplos se incluyen miembros del ejército, atletas, culturistas y modelos. Un sujeto comprometido puede ser un individuo con un peso que no es saludable, como por ejemplo, un individuo que tiene sobrepeso, que es clínicamente obeso o clínicamente muy obeso. Un sujeto comprometido puede ser alternativamente un individuo que tiene un peso saludable o no saludable que sufre una patología, como por ejemplo, una de las afecciones que se enumeran más adelante.

35 Un individuo con un peso saludable tiene un índice de masa corporal (IMC) de 18,5 a 24,9; un individuo que tiene sobrepeso tiene un índice de masa corporal (IMC) de 25 a 29,9; un individuo clínicamente obeso tiene un índice de masa corporal de 30 a 39,9; y un individuo clínicamente muy obeso tiene un índice de masa corporal de 40 o más.

40 Además de reducir los niveles en plasma de ácidos grasos y actuar en el centro del apetito del cerebro, un compuesto de fórmula (I) aumenta la eficiencia metabólica del cerebro al aumentar la posible fosforilación del cerebro y el  $\Delta G'$  de la hidrólisis de ATP. Un compuesto de fórmula (I), por tanto, promueve la función cognitiva y se puede utilizar para tratar una disfunción cognitiva o para reducir los efectos de neurodegeneración.

45 Un compuesto de fórmula (I) también aumenta el nivel del neuropéptido factor neurotrópico derivado del cerebro (FNDC) tanto en el núcleo paraventricular (el centro del apetito del cerebro) como en el hipocampo (una parte del cerebro reconocida como importante para la memoria). Además de disminuir el apetito, se sabe que FNDC previene la apoptosis y promueve el crecimiento neuronal en los ganglios basales y otras áreas de interés, por tanto, es de esperar que el mayor nivel de FNDC producido por el compuesto de fórmula (I) inhiba la neurodegeneración, limite la muerte del tejido nervioso tras hipoxia o trauma y promueva el crecimiento de tejido nervioso.

50 Un compuesto de fórmula (I) también aumenta el nivel de neuropéptido anorexigénico Transcrito Regulado por Cocaína y Anfetamina (CART). Se sabe que CART promueve la alerta, así como la disminución del apetito. Por

tanto, es de esperar que un aumento del nivel de CART producido por el compuesto de fórmula (I) mejore la función cognitiva.

El compuesto de fórmula (I), por tanto, es útil para (a) promover la alerta y mejorar la función cognitiva e (b) inhibir la neurodegeneración.

- 5 La invención por tanto proporciona una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en promover la alerta o mejorar la función cognitiva o para tratar una disfunción cognitiva.

10 La invención proporciona asimismo una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, para su uso en el tratamiento, prevención o reducción de los efectos de neurodegeneración, toxicidad de radicales libres, estados de hipoxia o hiperglucemia.

15 En otra realización, el compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, es para su uso en el tratamiento, prevención o reducción de los efectos de la neurodegeneración. Puede utilizarse un compuesto de fórmula (I) para tratar, prevenir o reducir los efectos de la neurodegeneración derivados de una causa en particular. La neurodegeneración puede derivarse por ejemplo de una enfermedad o trastorno neurodegenerativo o puede derivarse del envejecimiento, un trauma, anoxia o similar. Entre los ejemplos de enfermedades o trastornos neurodegenerativos que se pueden tratar empleando el compuesto de fórmula (I) se incluyen, sin limitarse a ellos, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, astrocitoma, glioblastoma y corea de Huntington.

20 Otros ejemplos de afecciones que se pueden prevenir o tratar utilizando un compuesto de fórmula (I) incluyen deterioro muscular, fatiga y fatiga muscular. Es posible prevenir o tratar el deterioro muscular y la fatiga muscular en sujetos sanos o comprometidos. Un sujeto comprometido puede ser por ejemplo un individuo que padece una encefalomiелitis miálgica (EM o síndrome de fatiga crónica) o síntomas de ellos. Se puede utilizar un compuesto de fórmula (I) para tratar a un paciente que padece una afección como diabetes, síndrome X metabólico o hipertiroidismo o a un paciente geriátrico.

25 Las afecciones mencionadas son ejemplos además de afecciones causadas, exacerbadas o asociadas con niveles en plasma elevados de ácidos grasos; el monoéster compuesto de fórmula (I) puede utilizarse por tanto para tratar dichas afecciones.

30 En otra realización, se utiliza una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto de fórmula (I) para tratar a un paciente que sufre una afección seleccionada entre diabetes, hiperpirexia, hipertiroidismo, síndrome X metabólico, fiebre e infección o a un paciente geriátrico.

35 Puede administrarse un compuesto de fórmula (I) en combinación con uno o más agentes adicionales, por ejemplo, un agente seleccionado entre micronutrientes y medicamentos. El compuesto de fórmula (I) y el agente adicional se pueden formular en combinación en una sola composición para su ingestión. Alternativamente, es posible formular el compuesto de fórmula (I) y el agente adicional por separado para una administración por separado, simultánea o secuencial.

40 Cuando el agente adicional es un medicamento puede ser por ejemplo una terapia convencional para una afección que pueda padecer el sujeto. Por ejemplo, puede administrarse un compuesto de fórmula (I) en combinación con agentes anti-diabéticos convencionales a sujetos que padecen diabetes. Entre los agentes antidiabéticos convencionales se incluyen sensibilizadores de insulina, como tiozolidinedionas, secretagogos de insulina como sulfonilureas, agentes antihiperoglucémicos de biguanida como metformina y combinaciones de los mismos.

Cuando el agente adicional es un micronutriente, puede ser por ejemplo un mineral o una vitamina. Entre los ejemplos se incluyen hierro, calcio, magnesio, vitamina A, vitaminas B, vitamina C, vitamina D y vitamina E.

45 Los cuerpos de cetona actúan sobre receptores de niacina. Por tanto, se puede administrar ventajosamente un compuesto de fórmula (I) en combinación con niacina (vitamina B3), ya que tanto los cuerpos de cetona como la niacina actúan sobre el tejido adiposo para inhibir la liberación de ácido graso libre.

50 El compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, en concreto 3-hidroxi-butirato de 3-hidroxi-butilo enriquecido enantioméricamente con respecto al enantiómero (3R, 3R'), se puede formular en una composición que se puede ingerir que comprende además un vehículo dietético o farmacéuticamente aceptable. Las composiciones pueden ser productos de comida, productos para beber, bebidas, suplementos, suplementos de la dieta, comidas funcionales, nutracéuticos o medicamentos.

55 La concentración del compuesto de fórmula (I) en la composición que se puede ingerir depende de diversos factores, entre los que se incluyen el formato de la composición en particular, el uso pretendido de la composición y la población objetivo. Por lo general, la composición tendrá un contenido del compuesto de fórmula (I) en una cantidad eficaz para reducir los niveles en plasma de ácidos grasos libres. Normalmente, la cantidad es la requerida para conseguir una concentración en la circulación de beta-hidroxi-butirato (bHB) y/o acetoacetato de 10 μM a 20

mM, preferentemente de 50  $\mu$ M a 10 mM, más preferentemente de 100  $\mu$ M a 5 mM, en un sujeto que ingiere la composición. En una realización, se utiliza una cantidad para conseguir una concentración en la circulación de 0,7 mM a 5 mM, por ejemplo de 1 mM a 5 mM.

5 El objeto de la presente invención se hidroliza rápidamente en dos productos naturales, beta-hidroxibutirato (bHB) y (R)-1,3-butanodiol y, por tanto, es una fuente de calorías natural que se puede clasificar como comida y puede formar parte de un producto alimentario.

10 Un producto alimentario es un material comestible compuesto principalmente de uno o más macronutrientes entre proteína, hidratos de carbono y grasas, utilizados en el cuerpo de un organismo para mantener el crecimiento, reparar daños, favorecer los procesos vitales o producir energía. Un producto alimenticio puede contener asimismo uno o más micronutrientes como vitaminas o minerales u otros ingredientes de la dieta adicionales, como aromatizantes y colorantes.

Entre los ejemplos de productos alimentarios en los que se puede incorporar el compuesto de fórmula (I) como aditivo se incluyen barras de aperitivo, barras para sustituir la comida, cereales, repostería y formulaciones de probióticos, incluyendo yogures.

15 Entre los ejemplos de bebidas y productos para beber, se incluyen refrescos, bebidas de energía, mezclas de bebidas en seco, bebidas nutricionales, bebidas para sustituir la comida, composiciones para su rehidratación (por ejemplo durante el ejercicio o después de él) y tés de hierbas para infusión o mezclas de hierbas para decocción en agua.

20 Una composición para rehidratación comprende normalmente agua, un hidrato de carbono azúcar y el compuesto de fórmula (I). La composición puede comprender asimismo aromatizantes, colorantes y conservantes adecuados, tal como podrán apreciar las personas especializadas. Los hidratos de carbono azúcar están presentes como fuente de energía, siendo conocidos los azúcares, entre los que se incluyen glucosa y trehalosa. Una bebida para sustituir la comida puede ser del tipo al que se recurre normalmente para su uso en regímenes para perder peso. Dichas formulaciones de bebida comprenden normalmente las cantidades adecuadas de uno o más macronutrientes, es decir, fuentes de proteína, grasa y/o hidratos de carbono, en combinación con ingredientes adicionales opcionales como agentes solubilizantes, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes y colorantes.

30 Un nutraceutico es un ingrediente alimentario, un suplemento alimentario o un producto alimentario considerado por proporcionar un beneficio médico o para la salud, incluyendo la prevención y tratamiento de una enfermedad. En general, un nutraceutico se adapta concretamente para conferir un beneficio para la salud del consumidor. Normalmente un nutraceutico comprende un micronutriente como vitaminas, minerales, hierbas o fitoquímicos en un nivel superior al que se encontraría en el producto alimentario regular correspondiente. Dicho nivel se selecciona normalmente para optimizar el beneficio para la salud pretendido del nutraceutico cuando se toma ya sea como una ración o como parte del régimen de la dieta o en el curso de una terapia nutricional. En el caso de la presente invención el nivel sería un nivel eficaz para reducir los niveles en plasma de los ácidos grasos.

35 Un alimento funcional es un alimento comercializado por proporcionar un beneficio para la salud del consumidor más allá de la puramente nutricional. Un alimento funcional lleva incorporado normalmente un ingrediente, como pueda ser un micronutriente, tal como se ha mencionado antes que le confiere un beneficio médico o fisiológico concreto distinto al efecto nutricional. Un alimento funcional suele llevar un reclamo de sus propiedades para la salud en el envase.

40 De acuerdo con la presente invención, un producto nutraceutico o un alimento funcional contiene normalmente el compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, en una cantidad eficaz para reducir los niveles en plasma de ácidos grasos libres en un sujeto. Más habitualmente, el producto nutraceutico o alimento funcional contiene el compuesto en una cantidad eficaz para suprimir el apetito, tratar la obesidad o promover la pérdida de peso en un sujeto.

45 Un suplemento de la dieta es un producto que tiene por objeto suplementar la dieta normal de un sujeto humano y que contiene un ingrediente de dieta como, por ejemplo, vitaminas, minerales, hierbas u otro producto botánico, o un aminoácido. Un suplemento de la dieta se presenta normalmente en un formato de dosificación unitaria y está diseñado para su consumo con la comida o antes o después de la comida, pero no en lugar de la comida. Un suplemento de la dieta, por tanto, se suele presentar en forma de comprimido o cápsula o como un polvo o  
50 granulado seco para espolvorearlo sobre la comida o añadirlo al agua o una bebida.

Un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, puede formularse en un medicamento o un suplemento de la dieta mezclándolo con un vehículo o excipiente dietética o farmacéuticamente aceptable. Dicho vehículo o excipiente puede ser un disolvente, un medio de dispersión, un revestimiento, un agente isotónico o para retardar la absorción, un edulcorante o similares. Entre ellos se incluyen cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes isotónicos o para retardar la absorción, edulcorantes y similares. Se pueden preparar vehículos adecuados a partir de una amplia gama de materiales incluyendo, pero sin limitarse a ellos, diluyentes, aglutinantes y adhesivos, lubricantes, disgregantes, agentes colorantes, agentes de volumen, agentes aromatizantes, agentes edulcorantes y materiales diversos como tampones y adsorbentes que puedan necesitarse

para preparar una forma de dosificación en particular. El uso de dichos medios y agentes para las sustancias farmacéuticamente activas son muy conocidas en la técnica.

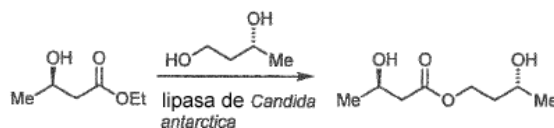
Por ejemplo, las formas sólidas orales pueden contener en combinación con el compuesto activo, diluyentes, como lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o almidón de patata; lubricantes como sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio y/o polietilén glicoles; agentes aglutinantes como almidones, gomas arábicas, gelatina, metil celulosa, carboximetil celulosa o polivinil pirrolidona; agentes disgregantes como almidón, ácido algínico, alginatos o glicolato de almidón sódico; mezclas efervescentes; colorantes, edulcorantes, agentes humectantes como lecitina; polisorbatos, lauril sulfatos. Dichas preparaciones se pueden fabricar según el modo habitual, como por ejemplo, por mezclado, granulado, formación de comprimidos, revestimiento con azúcar o procedimientos de revestimiento con película.

Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser jarabes, emulsiones y suspensiones. Los jarabes pueden contener un vehículo, como por ejemplo, sacarosa o sacarosa con glicerol y/o manitol y/o sorbitol. En particular, un jarabe para paciente diabéticos puede contener como vehículos únicamente productos que no metabolizan en glucosa o que solamente metabolizan en una reducida cantidad en glucosa, como por ejemplo sorbitol. Las suspensiones y las emulsiones pueden contener como vehículo, por ejemplo, una goma natural, agar, alginato sódico, pectina, metil celulosa, carboximetil celulosa o polialcohol vinílico.

Un compuesto de fórmula (I), tal como se ha definido, también puede formularse convenientemente como un granulado o polvos. En dicha forma, se puede dispersar fácilmente en agua u otro líquido, como un té o un refresco, que pueda ser consumido por una persona, por ejemplo una bebida como la antes descrita. Asimismo, se puede encapsular, formar un comprimido o formularse con un vehículo farmacéuticamente aceptable en una forma de dosificación unitaria. Las formas de dosificación unitaria pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz del extracto para una sola administración diaria, o pueden formularse en cantidades más pequeñas para proporcionar varias dosis al día. La composición puede formularse por tanto, por ejemplo, en comprimidos, cápsulas, jarabes, elixires, formulaciones entéricas o cualquier otra forma de administración oral. Entre los ejemplos de vehículos fisiológicamente aceptables se incluyen agua, aceite, emulsiones, alcohol y cualquier otro material adecuado.

La invención quedará ilustrada con los ejemplos que se exponen a continuación.

#### Ejemplo de referencia 1 Síntesis de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo



Se combinan (3R)-hidroxibutirato de etilo (aprox. 3 kg), (R)-1,3-butanodiol (aprox. 1,5 kg), y lipasa B de *Candida antarctica* sobre un soporte sólido (aprox. 300 g) en un matraz evaporador rotatorio de 20 litros y se coloca en un evaporador Büchi a gran escala. Se evacúa el sistema a 1067-1333 Pa (8-10 torr) con rotación a 40-45 °C hasta que se consume el diol (tal como se analiza por espectroscopia <sup>1</sup>H RMN; aprox. 3 días). Se filtra el material en bruto (neto) para separar la enzima y se elimina el exceso de (3R)-hidroxibutirato de etilo por evaporación (hasta una presión y una temperatura finales de 267-400 Pa (2-3 torr) y 80-85 °C). Se hace circular agua en todo el proceso [-5 °C durante la reacción, +5 °C durante la eliminación de (3R)-hidroxibutirato de etilo]. Se añade carbono activo (8 medidas de espátula grande), se continúa el mezclado en el evaporador rotatorio durante 15 minutos y a continuación se filtra la mezcla neta a través de un tapón de Celite®, decantándose el producto (filtrado) directamente en vasos de plástico para su almacenamiento. Se lava el tapón de Celite® con éter (aprox. 500 ml), se separa el disolvente del lavado al vacío y se añade el residuo al volumen para su almacenamiento.

#### Ejemplo de referencia 2 Ensayo *in vivo* de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo – dietas con control de calorías

Se alojaron ratas Wistar macho adultas jóvenes (a partir de un peso de 70 g) (Harlan UK Limited) (n = 50) a aproximadamente 20°C en un fotoperiodo de luz: oscuridad inverso 12h: 12h. Se alimentó a las ratas con pienso de laboratorio convencional (Chow) (SDS, Essex, RU) antes de comenzar las dietas experimentales: (a) normal "occidental" (Occidental en la que un 34 % de las kilocalorías provenía de la adición de palmitato (n = 20), (b) alto contenido en hidratos de carbono (CHO) en la que un 70 % de las kilocalorías provenía de la adición de almidón de maíz (n = 10) o (c) dieta de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo (monoéster) en la que un 30 % de las kilocalorías provenía de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo (n = 20).

A continuación, se muestran las composiciones de macronutrientes de las tres dietas. Todas las dietas tuvieron el mismo contenido de energía en kCal/g pero diferentes macronutrientes.

Tabla 1

Dieta	Energía (kCal/g)	Grasas	Proteína	Hidratos de carbono (% kCal)	Monoéster
Occidental	1,76	34	27	39	0
Hidratos de carbono	1,76	4	26	70	0
Monoéster	1,76	4	27	39	30

Las dietas y el monoéster fueron fabricados en la Universidad de Oxford. Se proporcionó agua *ad libitum*. Este proyecto de investigación fue aprobado por el Comité de ética de experimentación con animales de Oxford y el Ministerio del Interior.

- 5 Se alojaron individualmente las ratas una semana antes del comienzo de los experimentos para que estuvieran acostumbradas a vivir en un entorno solitario cuando se iniciara el estudio. Consumieron pienso de laboratorio convencional *ad libitum* hasta que se les asignó una dieta experimental. Se alimentó a las ratas con dietas Occidental y de hidratos de carbono con el mismo número de calorías que las que consumieron las ratas alimentadas con monoéster el día anterior.
- 10 Se alimentó a todas las ratas durante 66 días. Transcurrido este período, se determinaron el peso corporal de la rata y los pesos de la grasa de las patas y el corazón. En la Tabla 2 se muestran los resultados.

Tabla 2

Características físicas de la rata	Dieta occidental (n=20)	Dieta de hidratos de carbono (n=10)	Dieta de monoéster (n=20)
Peso corporal final (g)	226 ± 5	213 ± 8	213 ± 5
Peso del corazón (g)	0,69 ± 0,02	0,65 ± 0,02	0,64 ± 0,02
Peso corazón / corporal (g)	0,31 ± 0,01	0,31 ± 0,02	0,29 ± 0,01
Grasa epididimal (g)	2,49 ± 0,3	1,99 ± 0,2	1,48 ± 0,2*
Peso grasa epididimal / corporal	1,08 ± 0,2	0,93 ± 0,2	0,69 ± 0,1*
*P<0,05			

- 15 Los resultados de la Tabla 2 demuestran que el peso de la grasa de la pata fue significativamente menor transcurridos 66 días de ensayo en las ratas que se habían alimentado con la dieta de monoéster que en las ratas que siguieron una dieta occidental (es decir, alto contenido en grasa) o una dieta de hidratos de carbono. La relación entre la grasa y el peso corporal también fue significativamente menor en las ratas alimentadas con monoéster.

### Ejemplo de referencia 3 Ensayo *in vivo* de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo – dietas de alimentación de harinas

- 20 Se repitió el Ejemplo 2 utilizando los mismos alimentos que los indicados en la Tabla 1, pero se alimentó a las ratas con harinas. Las ratas de este ejemplo, por tanto, tuvieron la opción de consumir el alimento de cada harina en la cantidad que quisieran, en lugar de controlarlas calóricamente, como en el Ejemplo 2.

- 25 Se trazó un gráfico del peso corporal diario (en gramos por rata al día) en relación con el tiempo para las ratas de cada uno de los tres grupos de dieta durante los primeros seis días del ensayo. En la Figura 1 se muestra el gráfico resultante. Se utilizó el análisis de varianza unidireccional con ensayo de comparación múltiple de Tukey-Kramer (n = 8 por grupo, \*\*p<0,001). Se observa un peso corporal significativamente reducido a partir del tercer al sexto día en las ratas alimentadas con dieta de monoéster. El peso corporal de las ratas de este grupo alimentado con dieta de hidratos de carbono permaneció alto a lo largo del procedimiento de alimentación.

- 30 Las ratas alimentadas con harina con la dieta de monoéster consumieron menos alimento y perdieron más peso que las ratas de los otros dos grupos de dieta. Se trazó el gráfico del consumo de alimento diario (en gramos por rata al día) en relación con el tiempo para las ratas de cada uno de los tres grupos de alimentación durante los primeros siete días del ensayo. En la Figura 2, se muestra el gráfico resultante. También en este caso, se utilizó un análisis de varianza unidireccional con ensayo de comparación múltiple de Tukey-Kramer (n = 8 por grupo, \*\*\*p<0,001). Las ratas con la dieta de monoéster presentaron un consumo de alimento diario coherentemente reducido a lo largo del período en comparación con las ratas de las dietas de hidratos de carbono y occidental.

- 35 **Ejemplo de referencia 4 Ensayo *in vivo* de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo – dietas isonitrogenosas e isocalóricas**

En un estudio de 28 días, se distribuyeron aleatoriamente ratas Wistar hembra y macho, de pesos de aproximadamente 350 g, en uno de los tres grupos de dieta (n = 10 macho y 10 hembras/grupo) y se les administró o bien una dieta de hidratos de carbono (CHOD), o bien una dieta humana normal (NHD) o bien una dieta de cetona



(KD). Las dietas fueron isonitrogenosas e isocalóricas, difiriendo únicamente en las cantidades relativas de hidratos de carbono, grasas y cetonas. En KD, se utilizó cetona como dieta de monoéster de cetona (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo (es decir, el compuesto de fórmula (I)). En KD, aproximadamente 1/3 de la energía se derivó del éster de cetona, mientras que en NHD y CHOD, 1/3 de la energía se derivó de palmitato y almidón, respectivamente. En la Tabla 3 se resumen las composiciones de las dietas experimentales (expresadas en % de calorías).

Tabla 3

	Dieta de cetona (KD)	Dieta normal humana (NHD)	Dieta de hidratos de carbono (CHOD)
Hidratos de carbono	38,5	38,6	70,2
Proteína	26,9	27,0	26,2
Grasa	3,7	34,3	3,7
Monoéster de cetona	31	0	0
Total	100	100	100

En la Tabla 4, a continuación, se resumen las composiciones de las dietas experimentales (g/100g).

Tabla 4

	Dieta de cetona	Dieta normal humana (NHD)	Dieta de hidratos de carbono (CHOD)
Pienso para roedores	25,7	25,7	25,7
Gelatina sin azúcar	13,4	13,4	13,4
Agua	49,6	55,1	46,3
Aceite de palma	0	5,8	0
Harina de maíz	0	0	14,5
Monoéster de cetona	11,4	0	0
Total	100	100	100

El día 28 del estudio, las ratas macho del grupo KD pesaban significativamente menos que las ratas macho en los grupos CHOD y NHD ( $390 \pm 26$  g frente a  $418 \pm 15$  g y  $413 \pm 16$  g, respectivamente). La cantidad total de peso que ganaron las ratas macho en el grupo KD fue significativamente menor que la cantidad total de peso que ganaron los grupos CHOD y NHD. El consumo de alimento fue significativamente menor en los machos alimentados con KD en comparación con los machos alimentados con las dietas CHOD y NHD (consumo de alimento durante los días 22 a 29:  $239 \pm 17$  g frente a  $269 \pm 7$  g y  $269 \pm 7$  g, respectivamente). El consumo medio de monoéster de cetona en los machos fue aproximadamente 11 g/kg cuerpo/peso/día.

En los días 15, 22 y 28 del estudio, las ratas hembra del grupo KD pesaron significativamente menos que las ratas hembra en los grupos CHOD y NHD (el día 28:  $240 \pm 13$  g frente a  $253 \pm 12$  g y  $258 \pm 13$  g, respectivamente). La cantidad total de peso que ganaron las ratas hembra en el grupo KD fue significativamente menor que la cantidad total de peso que ganaron las ratas de los grupos CHOD y NHD. El consumo de alimento fue significativamente menor en las ratas que se alimentaron con KD en comparación con las hembras alimentadas con las dietas CHOD y NHD (consumo de alimento durante los días 22 a 29:  $175 \pm 12$  g frente a  $191 \pm 5$  g y  $194 \pm 7$  g, respectivamente). El consumo medio de monoéster de cetona en las hembras fue aproximadamente 13,0 g/kg cuerpo/peso/día.

#### **Ejemplo de referencia 5 Efecto de (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo en los niveles de neuropéptido, los niveles de intermediarios del ciclo de Krebs y CoA y los niveles de nucleótidos libres en el cerebro**

El día 14 del estudio, se distribuyeron aleatoriamente ratas Wistar que pesaban aproximadamente 250 g en uno de los tres grupos de dieta ( $n = 6$  ratas/grupo) y se les administró o bien una dieta de hidratos de carbono ("almidón"), o bien una dieta humana normal ("grasa") o bien una dieta de éster de cetona, en la que el éster de cetona utilizado fue monoéster de cetona (3R)-hidroxibutirato de (3R)-hidroxibutilo (es decir el compuesto de fórmula (I)). Estas tres dietas fueron consumidas en un par de comidas durante 3 horas al día. La composición de las dietas expresada en g/100g se resume en la Tabla 5 y en la Tabla 6 se resumen las composiciones expresadas en %.

Tabla 5

Componente	Almidón	Grasa	Éster de cetona
Pienso	25,7	25,7	25,7
Gelatina sin azúcar	13,4	13,4	13,4
Agua	46,3	55,1	49,6
Aceite de palma	0	5,8	0

(continuación)

Componente	Almidón	Grasa	Éster de cetona
Almidón de maíz	14,5	0	0
Éster de cetona	0	0	11,4
<b>Total</b>	100	100	100

Tabla 6

Componente	Almidón	Grasa	Éster de cetona
Hidratos de carbono	70,2	38,6	38,5
Proteína	26,2	27	26,9
Grasa	3,7	34,3	3,7
Éster de cetona	0	0	31
<b>Total</b>	100	100	100

5 Se observó que las ratas que siguieron una dieta de éster de cetona consumieron menos alimento y ganaron menos peso que las que siguieron dietas suplementadas con almidón (hidratos de carbono) o grasa. El resultado se correspondió con los resultados de los Ejemplos 2 a 4.

10 Después de consumir las 3 dietas en un par de comidas durante 3 horas al día durante 14 días, se midieron los niveles de varios intermediarios del ciclo de Krebs y CoA en el cerebro enzimáticamente y por espectrometría de masas utilizando técnicas normales. En la Tabla 7 se muestran los resultados.

15 Tal como se puede observar en la Tabla 7, se descubrió que las ratas alimentadas con éster de cetona tenían niveles más altos de malonil CoA en el cerebro (en negrita en la tabla). Malonil CoA es un metabolito conocido por estar asociado con un menor consumo de comida; se sabe que disminuye el apetito (Wolfgang, M. J. and Lane, M. D. (2006) J. Biol. Chem. 281, 37265-37269). Estos datos se corresponden con el uso de una dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) para disminuir el apetito. Los valores de la Tabla 7 son medias, en  $\mu\text{moles/g}$  de peso húmedo,  $\pm$  SEM con  $n = 6$  a  $8$ . CoA se da en  $\text{nmoles/g}$  de peso en húmedo.

Tabla 7: Intermediarios de ciclo de Krebs y CoA en el cerebro

	Almidón	Grasa	Éster de cetona
Citrato	0,199 $\pm$ 0,006	0,205 $\pm$ 0,005	0,222 $\pm$ 0,010
Isocitrato	0,0080 $\pm$ 0,0006	0,0086 $\pm$ 0,0004	0,0093 $\pm$ 0,008
$\alpha$ -cetogluturato	0,128 $\pm$ 0,007	0,138 $\pm$ 0,008	0,140 $\pm$ 0,008
Succinilo CoA ( $\mu\text{M}$ )	0,831 $\pm$ 0,075	0,777 $\pm$ 0,158	0,910 $\pm$ 0,207
Succinato	0,0800 $\pm$ 0,0022	0,0822 $\pm$ 0,0034	0,0864 $\pm$ 0,0033
Fumarato	0,0728 $\pm$ 0,0042	0,0801 $\pm$ 0,0055	0,0745 $\pm$ 0,0058
L-Malato	0,179 $\pm$ 0,011	0,192 $\pm$ 0,012	0,181 $\pm$ 0,013
Oxaloacetato calc.	0,0026 $\pm$ 0,0003	0,0021 $\pm$ 0,0001	0,0026 $\pm$ 0,0004
Acetil CoA ( $\mu\text{M}$ )	7,87 $\pm$ 1,32	8,20 $\pm$ 1,02	6,43 $\pm$ 0,53
Malonil CoA ( $\mu\text{M}$ )	0,954 $\pm$ 0,061	1,02 $\pm$ 0,14	<b>1,26 <math>\pm</math> 0,13</b>
a a $p < 0,05$ entre cetona de éster y almidón			

20 Después de alimentar a las ratas con las dietas durante 14 días, se determinaron las relaciones del nucleótido libre y las concentraciones de nucleótido libre. Se realizaron las mediciones en el cerebro congelado y se calcularon las relaciones de metabolito de las ratas tal como se ha descrito anteriormente (Veech, R. L. y col., J. Biol. Chem. 254: 6538-47, 1979). En la tabla 8 se muestran los resultados. Los valores de la Tabla 8 se dan como la media  $\pm$  SEM ( $n = 6$  a  $8$ ). Se asumió que el pH citosólico era 7,2.

Tabla 8: Relaciones de nucleótido libre calculadas y concentraciones de nucleótido libre calculadas

	Almidón	Grasa	Éster de cetona
[NAD+]/[NADH] citosol libre de Lactato/Piruvato	319 ± 23	<b>256 ± 29<sup>a,b</sup></b>	357 ± 27
[NAD+]/[NADH] mitocondria libre de αKGxNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /Glut	0,62 ± 0,08	0,66 ± 0,06	0,80 ± 0,17
[NAD+]/[NADPH] citosol libre de αKGxCO <sub>2</sub> /IsoCit	0,028 ± 0,002	0,028 ± 0,002	0,026 ± 0,003
EhCoQ/CoQH <sub>2</sub> mV de Fum/Succ	29,6 ± 0,5	30,5 ± 0,8	28,9 ± 0,6
[Mg <sup>2+</sup> ] libre mM de [Cit]/[Isocit]	1,5 ± 0,26	1,5 ± 0,11	1,5 ± 0,13
Posible fosforilación desde Kg+g (Eqn 1) M <sup>-1</sup>	27,100 ± 4,020	26,800 ± 2,700	<b>38,100 ± 3,390<sup>a,b</sup></b>
ΔG' ATP kJ/mol	-58,6 ± 0,4	-58,6 ± 0,2	<b>-59,6 ± 0,2<sup>a,b</sup></b>
[ADP] citosol libre mM/g de PCr/Cr	0,027 ± 0,001	0,027 ± 0,001	0,027 ± 0,001
[AMP] citosol libre mM/g de K <sub>miocinasa</sub>	0,0004 ± 0,00003	0,0004 ± 0,00003	0,0004 ± 0,00003
<sup>a</sup> p < 0,05 entre éster de cetona y almidón, <sup>b</sup> p < 0,05 entre éster de cetona y grasa, ambos examinados según el ensayo U de Mann-Whitney			

Los resultados de la Tabla 8 muestran que, tras 14 días de dieta, la posible fosforilación del cerebro y el ΔG' de hidrólisis de ATP fueron significativamente más altas en las ratas alimentadas con éster de cetona que en las ratas alimentadas con las dietas de hidratos de carbono y grasas. El único cambio en el cerebro de las ratas alimentadas con cetona fue una mayor energía: fosforilación y ΔG. Este aumento de la energía se corresponde con los efectos de cetonas en el corazón de ratas en funcionamiento por perfusión (Sato, K., Kashiwaya, Y., Keon, C. A., Tsuchiya, N., King, M. T., Radda, G. K., Chance, B., Clarke, K., y Veech, R. L. (1995) FASEB J. 9, 651-658). Sin embargo, los grandes cambios redox que se observan en el corazón con la perfusión de cetona no fueron observados.

Estos datos se corresponden con el uso de una dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) para aumentar la eficiencia metabólica del cerebro y promover así una mejor función cognitiva, tratar o reducir los efectos de enfermedades neurodegenerativas como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y corea de Huntington o, por ejemplo, proteger el cerebro y el sistema nervioso central contra la neurodegeneración como consecuencia del envejecimiento, trauma, anoxia y similares.

*Efectos del compuesto de cetona de fórmula (I) en la señalización de neuropéptido en el cerebro*

Después de 14 días de alimentación con una dieta de grasas, hidratos de carbono o éster de cetona, se examinaron los niveles de diversos neuropéptidos reconocidos por estar asociados con una disminución del consumo de alimento y una disminución del apetito (péptidos "anorexigénicos") en el área del núcleo paraventricular (NPV) del hipotálamo y en el hipocampo del cerebro de rata. Se midieron los niveles de neuropéptido utilizando técnicas de anticuerpo convencionales aplicadas sobre cerebros seccionados de las ratas. En las micrografías de las Figuras 3 a 9 se muestran los resultados.

Los péptidos medidos fueron Factor neurotrópico derivado del cerebro (FNDC), receptor 4 de hormona estimulada por melanocito (MC4R) y transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART). Además de ser anorexigénicos, estos péptidos tienen otras acciones importantes, según lo cual:

- FNDC disminuye el apetito y también se conoce por prevenir la apoptosis en los ganglios basales y otras áreas de interés de modo que se prevé que el aumento de FNDC inhiba la neurodegeneración, además de disminuir el apetito;
- CART es conocido por promover la alerta y disminuir el apetito, de manera similar a la cafeína o modafinilo (un fármaco estimulante para estimular el ánimo y potenciar la memoria), de modo que se prevé que el aumento de los niveles de CART mejoren la función cognitiva además de disminuir el apetito;
- MC4R facilita la descomposición de péptidos grandes en diversas hormonas entre las que se incluyen la hormona de estimulación de melanocito que a su vez regula el apetito. Las mutaciones de MC4R son conocidas por causar obesidad.

Por lo tanto, estos péptidos son de vital importancia en muchos de los aspectos terapéuticos importantes de la alimentación con éster de cetona además de suprimir el apetito. Sobre todo en a) promover la alerta y mejorar la función cognitiva y b) inhibir la neurodegeneración por diversas causas, como el envejecimiento, trauma, anoxia y similares.

Los resultados de la Figura 3 muestran significativamente más cuerpos celulares FNDC positivos en el NPV de Ratas tratadas con dieta de cetona en comparación con las ratas con una dieta de grasas e hidratos de carbono. Se observó algo similar en el hipocampo de las ratas tratadas con cetonas. Tal como se sabe, el NPV es una parte del cerebro que controla el apetito, mientras que el hipocampo es importante para la memoria. Por lo tanto, los resultados corroboran que una dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) puede utilizarse para

disminuir el apetito, inhibir la neurodegeneración y promover la función cognitiva.

5 Las micrografías de las Figuras 4 y 5 presentan una densidad significativamente mayor de cuerpos celulares MC4R positivos en las regiones magnocelular posterior (pm) y parvocelular medial (mpd) del NPV en ratas tratadas con la cetona o la dieta de hidratos de carbono (Cho), en comparación con las ratas tratadas con la dieta de grasas. Esto corrobora que la dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) se puede utilizar para disminuir el apetito y promover la pérdida de peso.

10 Las Figuras 6, 8 y 9 presentan los niveles de CART en el área del núcleo paraventricular posterior (NPV) del hipocampo de ratas tratadas durante 14 días con la dieta de grasas, la dieta de hidratos de carbono o la dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I). La Figura 7 muestra los niveles de CART en las áreas del núcleo ventromedial (VMH), el núcleo arqueado (ARC) y la eminencia media (ME) del hipotálamo. Se observa un número significativamente mayor de cuerpos celulares CART positivos en los NPV de ratas tratadas con las dietas de cetona e hidratos de carbono que en las ratas tratadas con la dieta de grasas. El nivel máximo de CART se observa en el NPV de ratas tratadas con la dieta de cetona. Asimismo, las ratas tratadas con la dieta de cetona contiene el número máximo de cuerpos celulares CART positivos en las áreas del núcleo ventromedial (VMH), el núcleo arqueado (ARC) y la eminencia media (ME) del hipocampo. Estos resultados corroboran también que una dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) puede utilizarse para disminuir el apetito, inhibir la neurodegeneración y promover la mejora de la función cognitiva. En suma, las micrografías de las Figuras 3 a 9 muestran como la dieta de cetona produce

- 20 - más FNDC en el núcleo paraventricular y en el hipocampo (Figura 3);
- más CART en el núcleo paraventricular (Figuras 6 a 9); y
- más actividad MC4R en el núcleo paraventricular (Figuras 4 y 5).

Estos datos se corresponden con el uso de una dieta que comprende el compuesto de cetona de fórmula (I) para disminuir el apetito, inhibir la neurodegeneración y promover la mejora de la función cognitiva.

#### Ejemplo de referencia 6 Composición de comprimido

25 Se fabricaron comprimidos con un peso de 0,15 g cada uno y que contenían 25 mg del compuesto de fórmula (I) del siguiente modo:

##### Composición para 10.000 comprimidos

30 Compuesto de fórmula (I) (250 g)  
Lactosa (800 g)  
Almidón de maíz (415g)  
Polvo de talco (30 g)  
Estearato de magnesio (5 g)

35 Se mezclaron el compuesto de fórmula (I), lactosa y la mitad del almidón de maíz. A continuación, se hizo pasar la mezcla a través de un tamiz de 0,5 mm de tamaño de malla. Se suspendió el almidón de maíz (10 g) en agua templada (90 ml). Se utilizó la pasta resultante para granular el polvo. Se secó el granulado y se rompió en pequeños fragmentos sobre un tamiz de 1,4 mm de tamaño de malla. Se añadió la cantidad restante de almidón, talco y magnesio, se mezcló cuidadosamente y se procesó en comprimidos.

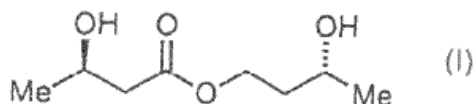
#### Ejemplo 7 Formulación de jarabe

40	Compuesto de la invención	250 mg
	Solución de sorbitol	1,50 g
	Glicerol	2,00 g
	Benzoato sódico	0,005 g
	Aroma	0,0125 ml
	Agua purificada en cantidad suficiente para	5,00 ml

45 Se disolvió el compuesto de fórmula (I) en una mezcla de glicerol y la mayor parte del agua purificada. A continuación, se añadió una solución acuosa del benzoato sódico a la solución, seguido de la adición de la solución de sorbitol y, finalmente, el aroma. Se obtuvo el volumen con agua purificada y se mezcló a fondo.

## REIVINDICACIONES

1. Una bebida que se puede ingerir por vía oral que comprende un compuesto que es 3-hidroxitirato de 3-hidroxitirato enriquecido enantioméricamente con respecto a (3R)-hidroxitirato de (3R)-hidroxitirato de fórmula (I):



- 5 2. Una bebida de acuerdo con la reivindicación 1 en la que el compuesto que es 3-hidroxitirato de 3-hidroxitirato está enriquecido enantioméricamente en al menos 90 % con respecto a (3R)-hidroxitirato de (3R)-hidroxitirato.
3. Una bebida de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que comprende además un vehículo dietético o farmacéuticamente aceptable.
- 10 4. Una bebida de acuerdo con la reivindicación 3 que es, un producto para beber, una bebida, una bebida energética, una mezcla para bebida en seco, una bebida nutricional, una bebida para sustituir la comida o el alimento, una composición para su rehidratación o un té de hierbas o una mezcla de hierbas.
5. Una bebida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que es una composición para su rehidratación que comprende además un hidrato de carbono azúcar y agua.
- 15 6. Una bebida, tal como se ha definido en la reivindicación 1, para su uso en un procedimiento de tratamiento de un cuerpo humano o animal en terapia.
7. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de una afección que está causada, exacerbada o asociada con niveles elevados en plasma de ácidos grasos libres en un sujeto humano animal.
- 20 8. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso para tratar una afección relacionada con la pérdida de peso o la ganancia de peso, suprimir el apetito, tratar la obesidad, promover la pérdida de peso, mantener un peso sano o disminuir la relación entre el músculo graso o magro en un sujeto.
9. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso en la prevención o el tratamiento de una afección seleccionada entre disfunción cognitiva, una enfermedad o trastorno neurodegenerativo, deterioro muscular, fatiga o fatiga muscular.
- 25 10. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de un paciente que padece una afección seleccionada entre diabetes, hipertiroidismo, síndrome X metabólico o para el tratamiento de un paciente geriátrico.
11. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento, prevención o reducción de los efectos de neurodegeneración, toxicidad de radicales libres, afecciones hipóxicas o hiperglucemia.
- 30 12. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 11, en la que la neurodegeneración está causada por envejecimiento, trauma, anoxia-hipoxia o una enfermedad o trastorno neurodegenerativo.
13. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno neurodegenerativo seleccionado entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, epilepsia, astrocitoma, glioblastoma y corea de Huntington.
- 35 14. Una bebida según se reivindica en la reivindicación 1 o la reivindicación 6 para su uso para promover la alerta o mejorar la función cognitiva.
15. Una bebida, tal como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 14 para su uso en combinación con una terapia normal para la afección que se esté tratando.

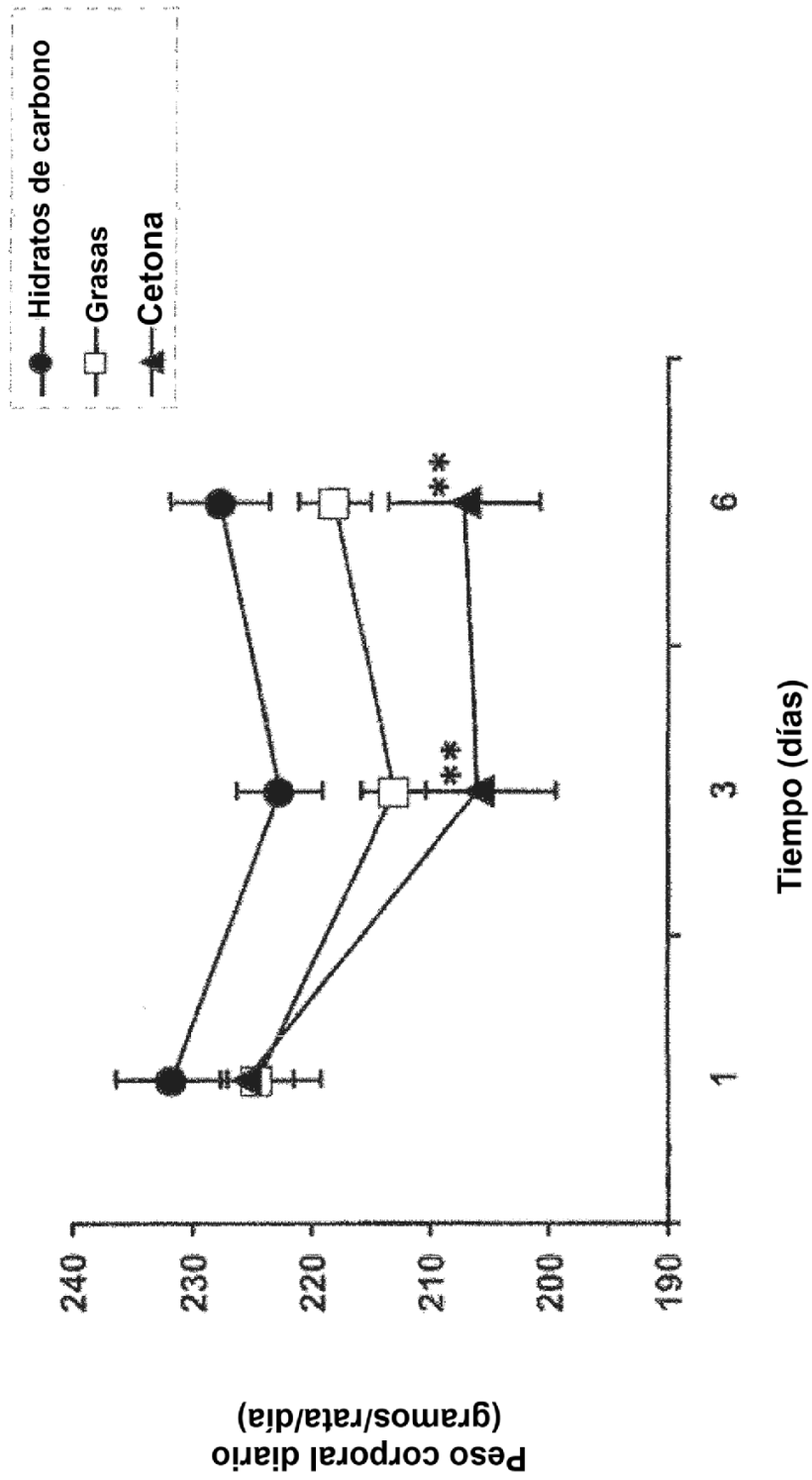


Fig. 1

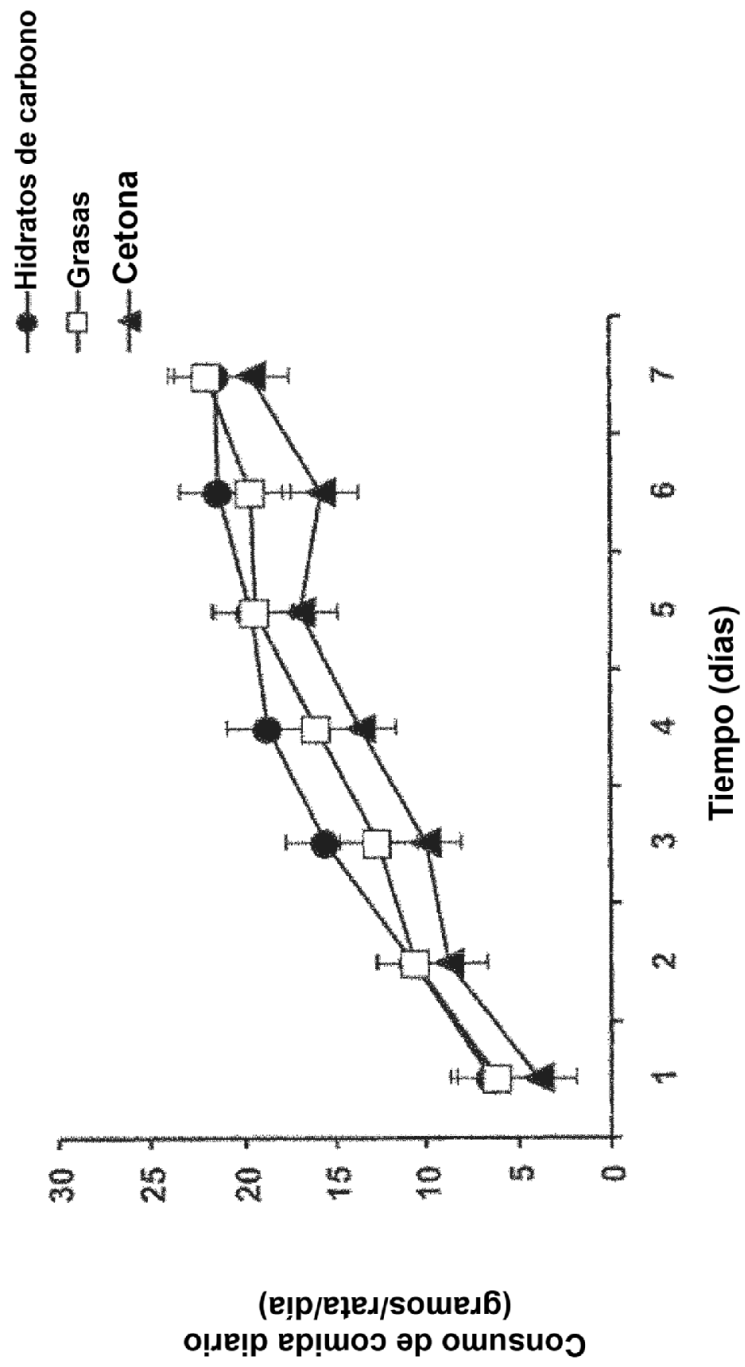


Fig. 2

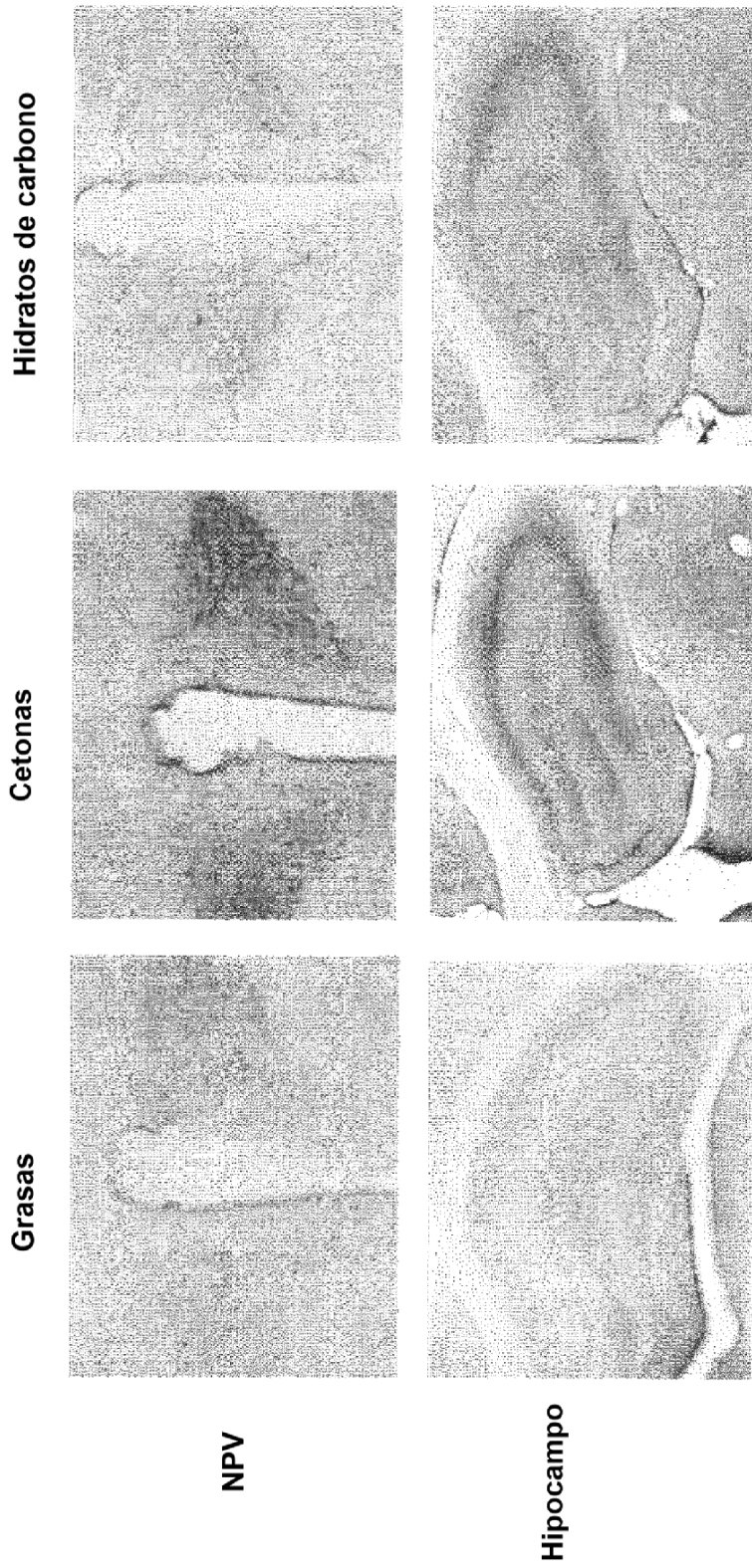


Fig. 3



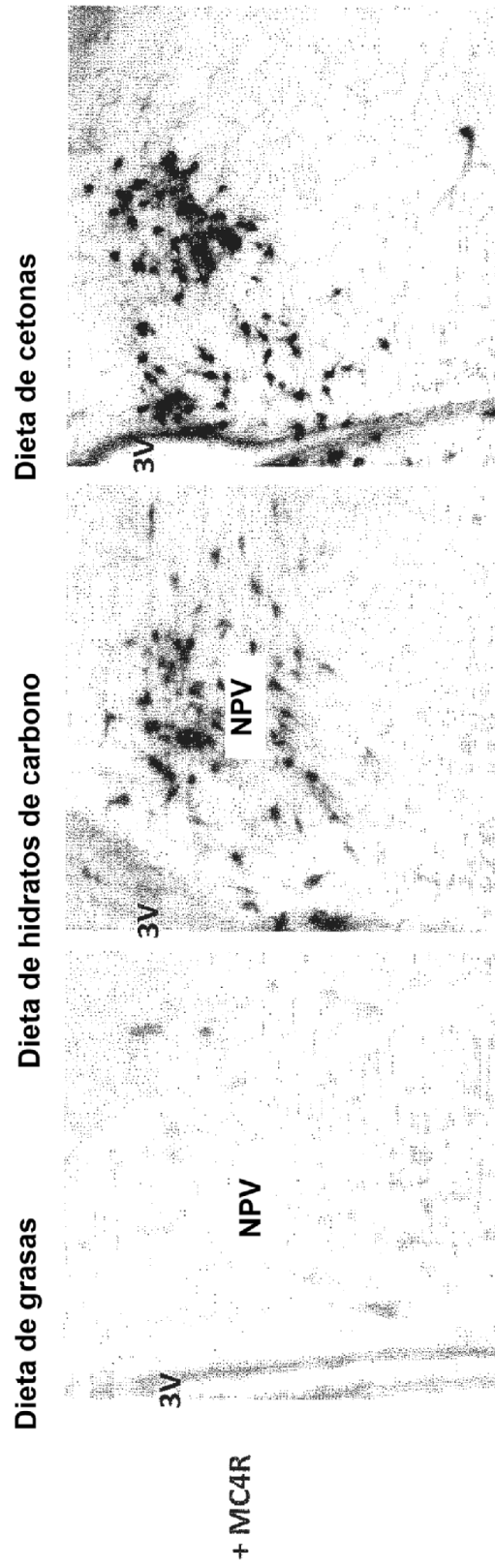


Fig. 4

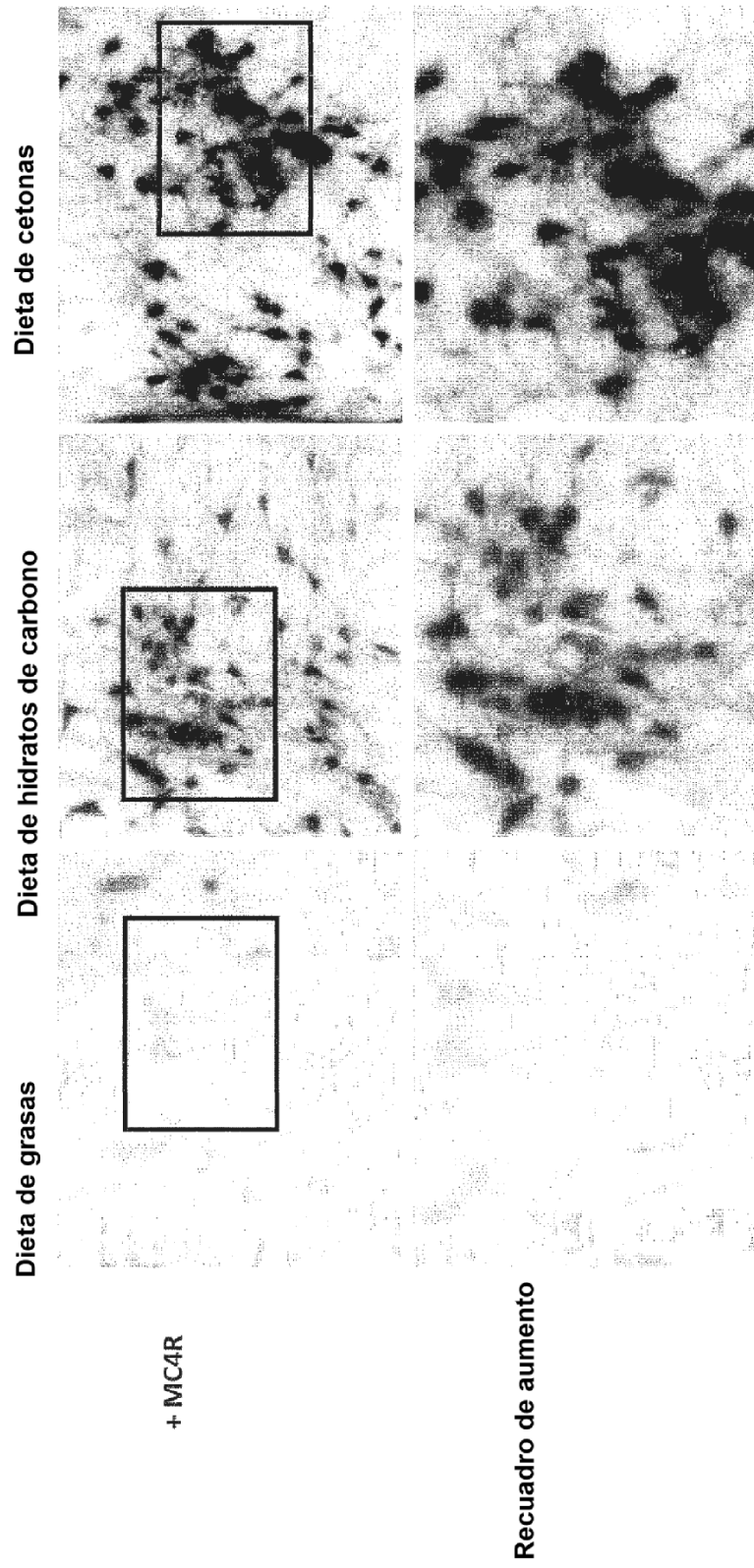
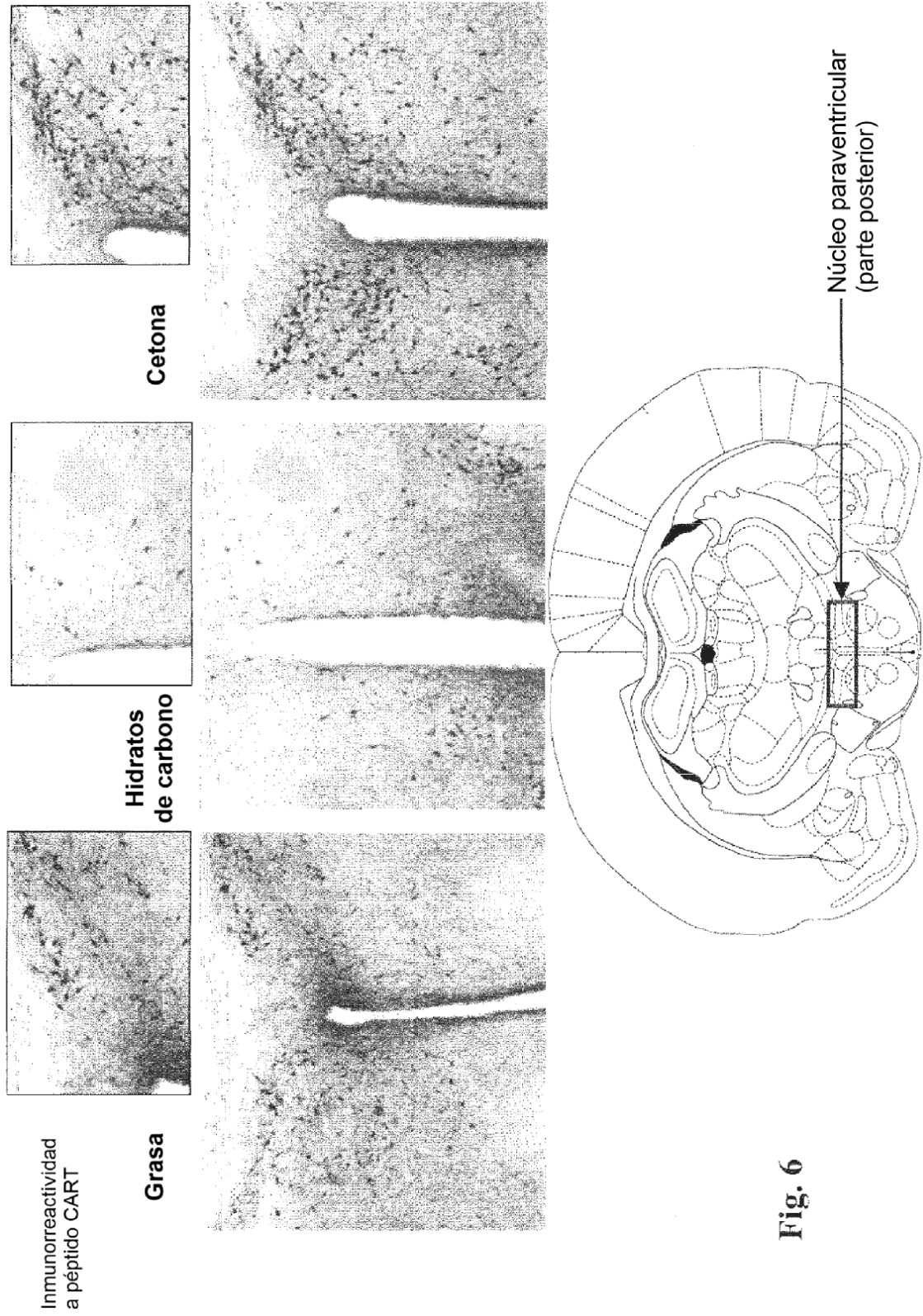
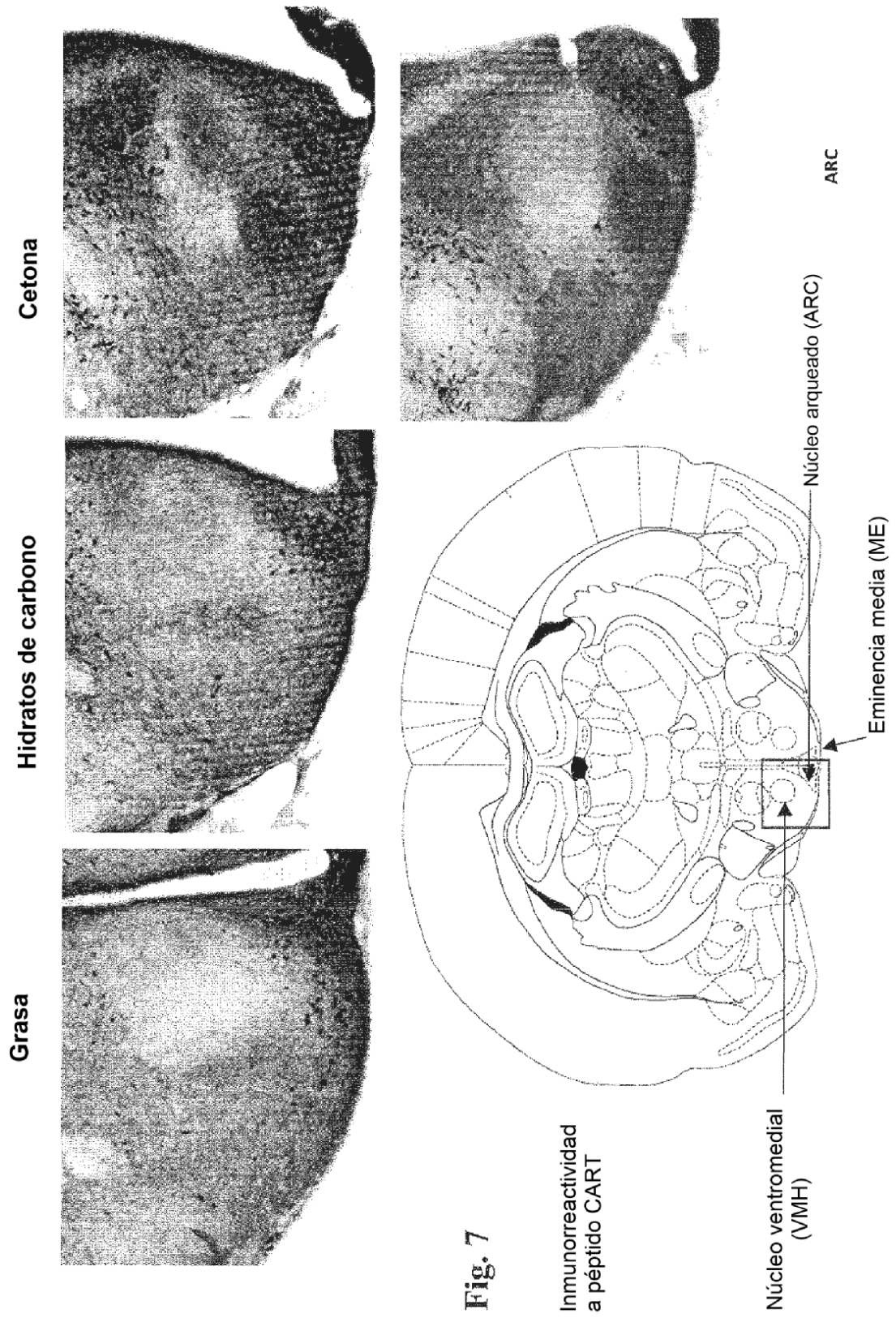


Fig. 5

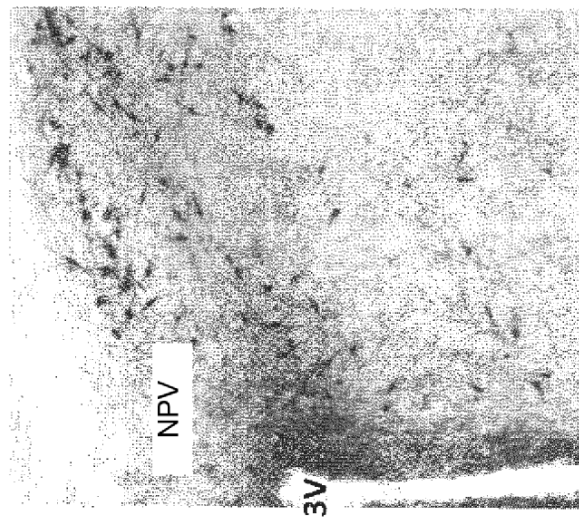


**Fig. 6**

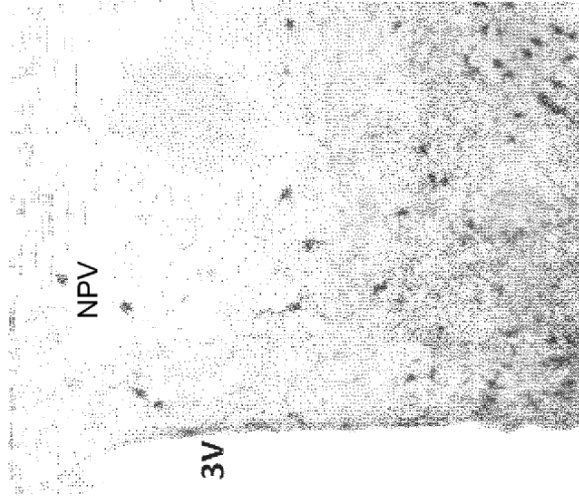


Inmunorreactividad a péptido CART

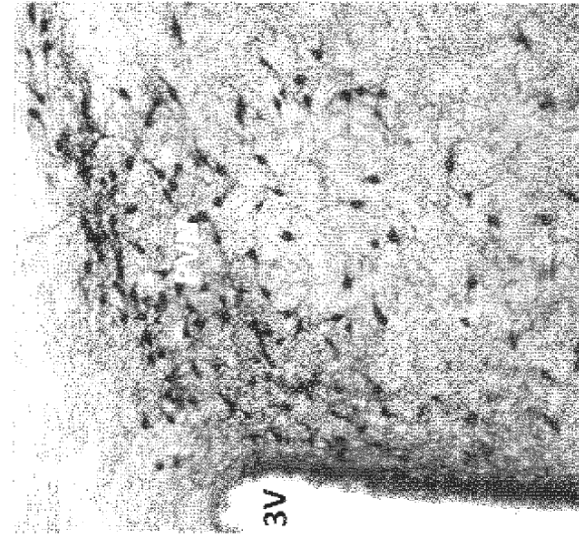
Grasa



Hidratos de carbono



Cetona



**Fig. 8**

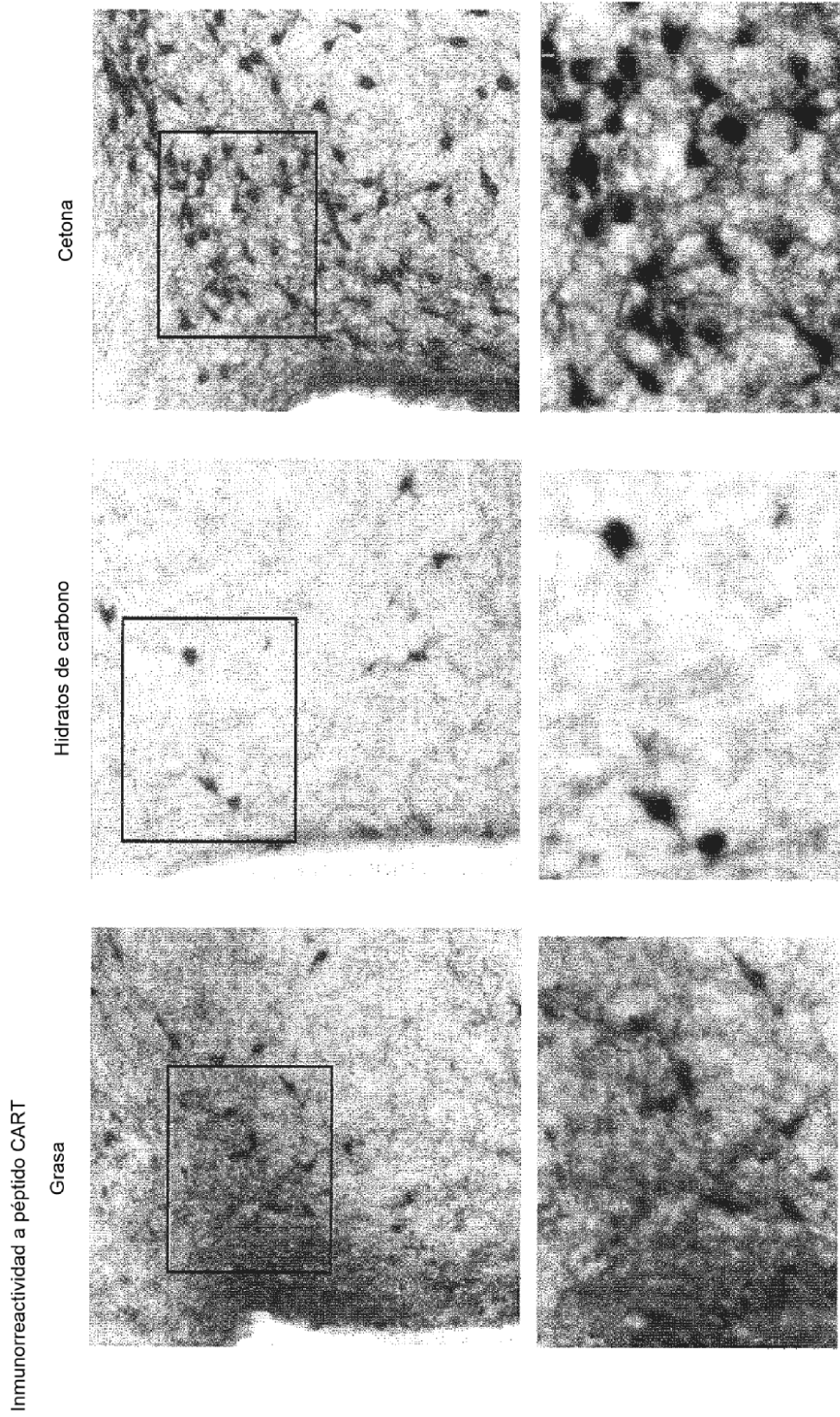


Fig. 9