

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 688 424**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/105** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2010 PCT/EP2010/058124**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.12.2010 WO10142750**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2010 E 10725100 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.07.2018 EP 2440206**

54 Título: **Trigonelina como estimulante muscular**

30 Prioridad:

**11.06.2009 EP 09162470**  
**23.07.2009 EP 09166271**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**02.11.2018**

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)**  
**Het Overloon 1**  
**6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**FRIEDEL, ANGELIKA;**  
**KURATLI, KARIN;**  
**WEHRLI, CHRISTOF;**  
**WERTZ, KARIN;**  
**WOLFRAM, SWEN y**  
**WANG-SCHMIDT, YING**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 688 424 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

Trigonelina como estimulante muscular

5 La presente invención se refiere al uso de compuestos de trigonelina para inhibir la pérdida muscular durante los períodos de inactividad. Uno de los rasgos más característicos del músculo esquelético es su notable capacidad para adaptarse a diferentes estímulos. A lo largo de la vida, el músculo esquelético se adapta permanentemente a los cambios internos (envejecimiento/sarcopenia que produce la pérdida muscular) o externos (la actividad física produce hipertrofia muscular, mientras que una lesión genera recuperación muscular; y el reposo en cama produce atrofia muscular). Estas influencias modifican las variables estructurales, bioquímicas y moleculares de las diferentes fibras del músculo esquelético. Para la adaptación de las miofibras, se requiere la activación y la diferenciación miogénica de las células satélite, las denominadas células madre del músculo esquelético. Tras el entrenamiento físico, por ejemplo, las células satélite se fusionan entre sí con el alargamiento o la reparación de las miofibras.

15 La trigonelina es un alcaloide de fórmula química  $C_7H_7NO_2$ . La trigonelina es un metabolito de niacina (vitamina B3) que se excreta en la orina. La trigonelina también se encuentra en el café, en el que puede ayudar a prevenir la caries dental al evitar que la bacteria *Streptococcus mutans* se adhiera a los dientes.

20 El documento US 2005/0226948 (Lee *et al.*) desvela un extracto de semilla de fenogreco que contiene 4-hidroxiisoleucina y una serie de otros compuestos, entre los que se incluye la trigonelina. Estas combinaciones se usan para mejorar el transporte de la glucosa a las células musculares.

El documento US2007/0105793 (Hendrix) desvela una composición útil para el tratamiento de la hiperlipidemia, hipercolesterolemia e hipergliceridemia, que contiene niacina y derivados.

25 El documento US2007/0259861 (Krantz) desvela composiciones que contienen un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) en combinación con un mimético de prostaglandina (que puede incluir diversos derivados de niacina). Estas combinaciones se usan para el alivio del dolor y/o de la inflamación. El documento US 20051176827 se dirige al uso del fenogreco y a la influencia en los niveles de glucosa en sangre relacionados con la síntesis de glucógeno muscular. En los párrafos 37-38, se dirige específicamente al uso de extractos de fenogreco durante el ejercicio o inmediatamente después del ejercicio para potenciar la recuperación muscular. No se enseña el uso de la trigonelina para reducir la pérdida de músculo experimentada durante los momentos de actividad/inmovilidad reducida.

35 El documento WO 05/021596 se dirige a componentes de fenogreco, preferentemente en presencia de aminoácidos u otros compuestos bioactivos, que pueden afectar a la utilización de la glucosa, y a la regulación y al transporte de la insulina. La 4-hidroxiisoleucina se considera el principio activo. AIDE-PRIZE-POID. "GROSSIR-FORUM NUTRITION", CITA INTERNET, 30 de abril de 2009, 30-04-2009), páginas 1-3. XP002546149: obtenido de Internet: URL: [http://forum.doctissimo.fr/nutritiongrossir/aide-prize-poid-sujet\\_147967\\_1.htm](http://forum.doctissimo.fr/nutritiongrossir/aide-prize-poid-sujet_147967_1.htm) describe cómo el fenogreco puede ayudar a las personas a aumentar de peso, a combatir la pérdida de apetito y a estimular la digestión general. "PHYTOTHERAPIE". CITA DE INTERNET. 25 de enero de 2008 (25-01-2008), páginas 1-6, XP002546150: obtenido de Internet: LIRL: <http://www.rnusculatiorrnultisports.com/Plantes%20basebal%20baseball.html> también analiza el fenogreco como útil para los culturistas que desean aumentar la masa y el volumen muscular, y no para reducir la pérdida de músculo experimentada durante los períodos de actividad/inmovilidad reducida.

45 El documento US 2006/002983 enseña una combinación de una composición de proteína, grasa e hidratos de carbono. Opcionalmente, se puede añadir una multivitamina. El documento EP160467 enseña citidina difosfato colina para el desgaste muscular. El documento WO 01/74361 desvela proporciones específicas de la combinación de propionil-L-carnitina, coenzima Q10, nicotinamida, riboflavina y ácido pantoténico.

50 El documento WO 2004/037018 desvela la combinación de quercetina y otros compuestos. Se ha descubierto, de acuerdo con la presente invención, que la trigonelina puede reducir la pérdida de músculo durante los períodos de menor actividad o inmovilidad. Por lo tanto, un aspecto de la presente invención es el uso de la trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, en la fabricación de un producto nutracéutico o alimento para reducir la cantidad de pérdida muscular durante la inactividad. Un aspecto adicional de la presente invención es un método para reducir la pérdida de músculo de una persona menos activa o inmóvil con riesgo de pérdida muscular mediante la administración de trigonelina, o una sal o un éster de la misma, y la observación del mantenimiento del músculo. En realizaciones preferidas, la trigonelina y/o la sal o el éster de la misma se usan junto con un suministro nutricional óptimo de proteína y vitaminas (que incluye, en especial, la vitamina D y/o sus metabolitos tales como 25-hidroxivitamina D3).

La FIGURA 1 muestra los resultados de los efectos *in vitro* de la trigonelina en la formación de miotubos en las células musculares del ratón.

65 La FIGURA 2 muestra el peso húmedo del músculo gastrocnemio en relación con el peso corporal (PC) de los ratones de control y los ratones tratados (modelo de hipertrofia).

La FIGURA 3 muestra los resultados del peso húmedo del músculo gastrocnemio en un modelo de suspensión de la cola en relación con el PC para los ratones de control y los ratones tratados.

La FIGURA 4 muestra el peso húmedo del músculo gastrocnemio tras correr en una cinta.

5 Como se usa a lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones, se aplican las siguientes definiciones: "trigonelina" se refiere a cualquier forma de trigonelina adecuada para un producto nutracéutico, que incluye trigonelina e hidrato de trigonelina de una sal o un éster de trigonelina.

10 "Sal o éster de trigonelina" se refiere a cualquier forma de sal o de éster de trigonelina que se puede usar para formular la trigonelina en una forma nutracéuticamente aceptable, o en un producto alimentario. La sal o el éster debe ser aquel cuya ingestión esté permitida por la agencia reguladora aplicable. Los ejemplos de sales de trigonelina adecuadas incluyen sulfato, hidrogenosulfato, cloruro, fosfato y citrato. Los ejemplos de ésteres de trigonelina adecuados incluyen el cloruro de éster metílico y el cloruro de éster etílico.

15 "Prevenir" incluye la reducción de la gravedad de los síntomas y/o afecciones, reduciendo el riesgo de desarrollar un síntoma o una afección, aumentando el tiempo antes del desarrollo de los síntomas o de las afecciones, la intervención precoz, así como la negación de un síntoma o de una afección. La "observación" puede ser realizada por la persona que use la trigonelina o por un tercero. La observación puede realizarse durante un período de tiempo, tal como durante una semana, un mes, tres meses, seis meses u otro período de tiempo deseado.

20 La trigonelina se puede encontrar en una gran variedad de plantas tales como granos de café verdes y tostados, *Trigonella foenum graecum* (fenogreco, *Leguminosae*), *Schumannioophyton magnificum*, (*Rubiaceae*) *Mappia foetida* y *Strophanthus* sp., por nombrar solo algunos.

25 Así pues, la trigonelina puede estar presente en un extracto vegetal. Preferentemente, si se usa un extracto vegetal como fuente de trigonelina, el extracto vegetal contiene al menos aproximadamente el 20 % en peso de trigonelina. Como alternativa, la trigonelina puede prepararse sintéticamente a partir del ácido nicotínico. En el documento DE 344030 (1921) "Betaines of the pyridine series" (Merck, E.), se puede encontrar un ejemplo de una síntesis.

30 Se descubrió que la trigonelina puede retrasar la aparición de la atrofia muscular cuando el músculo no se usa o no se usa enérgicamente. Por lo tanto, la presente invención se dirige a la trigonelina y/o a una sal o un éster de la misma para su uso en un método de prevención de la sarcopenia, fragilidad en el anciano o pérdida de músculo esquelético, preferentemente cuando el uso es para períodos de menor actividad muscular o inmovilidad asociada al reposo en cama debido a una enfermedad, cirugía y estancias hospitalarias más prolongadas. Se prefiere el uso de la trigonelina como parte de una dieta nutricionalmente completa, es decir, el uso junto con un aporte adecuado u óptimo de proteínas y/o vitaminas. Preferentemente, las vitaminas incluirán vitamina D y/o un metabolito activo de vitamina D, tal como 25-hidroxitamina D3. Las combinaciones de trigonelina y/o una sal o un éster de la misma junto con proteína y/o vitamina/s también forman parte de la presente invención.

40 Dado que la trigonelina tiene aplicaciones en medicina veterinaria y en medicina humana, el uso de la trigonelina podría mejorar la salud muscular en animales no humanos, particularmente en caballos de carrera, perros, camellos u otros animales usados para competir o como animales de carga, u otros animales usados por su fuerza. La trigonelina se puede administrar a animales sanos o a animales heridos/enfermos para acelerar su convalecencia.

45 La trigonelina, o una sal o un éster de la misma, sin introducir calorías en la dieta, tienen estos beneficios específicos:

- ayuda a prevenir la pérdida muscular;
- ayuda a prevenir la sarcopenia (reducción del riesgo, reducción de la gravedad, retraso de la progresión);
- 50 • ayuda a prevenir la pérdida muscular durante una enfermedad o tras una cirugía, contribuyendo así a una convalecencia más rápida y estancias hospitalarias más breves;
- ayuda a prevenir la fragilidad en los ancianos, contribuyendo así a mejorar la movilidad y la calidad de vida, y ayuda a posponer la pérdida de una vida independiente;
- ayuda a mantener el desarrollo muscular cuando las circunstancias impiden hacer ejercicio;
- 55 • apoya la recuperación tras un daño muscular;
- ayuda a mantener la fuerza muscular;
- ayuda a aumentar la fuerza muscular;
- potencia la recuperación y la reparación muscular.

60 Sorprendentemente, los presentes inventores descubrieron que la trigonelina ayuda cuando el músculo esquelético se está adaptando a estímulos como el entrenamiento: la descarga muscular (atrofia) previene la pérdida de músculo esquelético.

65 Así pues, la trigonelina ayuda a prevenir la sarcopenia, la fragilidad en los ancianos y la pérdida muscular durante el reposo en cama debido a una enfermedad, una cirugía y estancias hospitalarias más prolongadas. Además, la trigonelina potencia la recuperación y la reparación muscular.

## DOSIS:

5 Aunque las dosis pueden variar, pueden variar de al menos 5 mg al día para un ser humano; preferentemente, de 5 a 5.000 mg/día para un ser humano, más preferentemente, de 10 a 3.000 mg/día para un ser humano e incluso más preferentemente de 50 a 500 mg/día para un ser humano. Las dosis en animales son similares, y se pueden ajustar con respecto al peso del animal.

10 De acuerdo con la presente invención, la trigonelina, o la sal o el éster de la misma, está presente en una composición dietética, nutracéutica o farmacéutica. Las composiciones preferidas comprenden trigonelina, o una sal o un éster de la misma, y un vehículo dietético, nutracéutico o farmacéutico adecuado. Los productos dietéticos o nutracéuticos de la presente invención pueden estar en cualquier formato aceptable para el consumidor, incluyendo alimentos y bebidas funcionales.

15 Los ejemplos de formatos nutricionales adecuados incluyen diversos alimentos y bebidas, que incluyen descargas, barras de cereales u otras barras, bebidas, bebidas ricas en proteínas, suplementos, bebidas instantáneas, bebidas efervescentes y similares. En especial, se prefieren los formatos que son adecuados para la nutrición deportiva, incluyendo bebidas, proteínas en polvo, barras, suplementos y bebidas instantáneas.

20 Los siguientes ejemplos no limitantes se presentan para ilustrar mejor la invención.

## EJEMPLO 1

## Modelo de células musculares

25 En primer lugar, se ensayó la influencia de la trigonelina en la diferenciación de los mioblastos *in vitro* usando mioblastos de ratón C2C12, que se usan comúnmente para estudiar la adaptación muscular. Se sembraron células C2C12 en placas de 96 pocillos de colágeno I (1.600 células/pocillo) en medio de crecimiento (medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) complementado con FBS al 10 %, L-glutamina 2 mM, piruvato 1 mM, 50 UI/ml de penicilina, 50 ug/ml de estreptavidina) hasta que alcanzaron el 100 % de confluencia, aproximadamente en 3 días. A  
30 continuación, las células fueron inducidas a diferenciarse usando medio de diferenciación (DMEM, FBS al 2 %, L-glutamina 2 mM, piruvato 1 mM, 50 UI/ml de penicilina, 50 ug/ml de estreptavidina) bien con DMSO (control) o con 10 µg/ml de monohidratado de trigonelina durante 24 h. La concentración final de DMSO se normalizó al 0,5 % en todos los pocillos. Las células se cultivaron a 37 °C, con CO<sub>2</sub> al 5 %.

35 Las células se fijaron con solución de formaldehído al 3,7 % (formaldehído al 37 % diluido en medio de crecimiento, filtrado en condiciones estériles antes de su uso) durante 10 min a temperatura ambiente, y se lavaron dos veces con 1 x DPBS (1 x solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco). Tras la permeabilización con TritonX-100 al 0,1 % (diluido en 1 x DPBS) durante 2 min, las muestras se bloquearon con 1 x DPBS más BSA al 2 % durante 1 h. Para el marcaje de los miocitos, se marcaron las células con anticuerpo de cadena pesada anti-alfa-miosina a 1:20 (MF-20) durante 1 hora. Las muestras se lavaron con 1 x DPBS y se marcaron fluorescentemente con anticuerpo secundario (anticuerpo secundario anti-ratón IgG Alexa 488 a 1:250 más Hoechst a 1:2000 en 1 x DPBS) durante  
40 1 h. Finalmente, se lavaron las células dos veces con 1 x DPBS y se sellaron las placas para la generación de imágenes en el Lector ArrayScan® HCS.

45 Para el análisis de las imágenes, se cuantificaron los miotubos marcados con miosina en el Lector ArrayScan HCS usando BioApplication Morphology Explorer.V2. Se seleccionaron los miocitos con Área del objeto superior a 500 e Intensidad total del objeto superior a 1.000. En la FIGURA 1, se muestra el número de miocitos de las muestras por triplicado. Se observó que la trigonelina aumentó la diferenciación en los mioblastos de ratón C2C12 en un 36 %.

## EJEMPLO 2

Efectos *in vivo*

55 Para confirmar los presentes resultados *in vitro*, en primer lugar, se analizó la trigonelina en un modelo animal de hipertrofia para ver los efectos durante la carga muscular. Se extirpó el músculo gastrocnemio de una extremidad posterior de los animales para inducir la hipertrofia compensatoria en el músculo plantar y en el sóleo mediante múltiples mecanismos. Este modelo aumenta el peso muscular bajo carga muscular/entrenamiento. Simula la condición humana de un humano medio que es físicamente activo o de un atleta para mantener la función del músculo esquelético durante el ejercicio.

60 Se entregaron ratones C57B1/6 hembra con un peso de 18-20 g y se dejó que se aclimataran a las instalaciones durante un período de una semana. Al comienzo del estudio, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos (10 animales por grupo).

65 Se anestesió a los animales y se fijó la extremidad posterior izquierda de los mismos. Se realizó una pequeña incisión a través de la piel sobre el músculo gastrocnemio. Se dejaron al descubierto el músculo gastrocnemio

completo y sus tendones. Se diseccionaron cuidadosamente ambas cabezas del músculo gastrocnemio de los músculos intactos subyacentes, teniendo cuidado de no romper los nervios ni los vasos. Se cerró la piel con hilo de seda, y se devolvieron los animales por separado a sus jaulas. Tras recuperarse de la anestesia, los animales podían moverse de inmediato sin problemas. Todos los animales recibieron un analgésico. Los animales se trataron durante tres semanas mediante alimentación por sonda con clorhidrato de trigonelina a una dosis diaria de 300 mg/kg de peso corporal, y el grupo de control recibió vehículo.

Usando esta técnica, los presentes inventores han identificado y cuantificado el aumento del peso del músculo esquelético del músculo plantar y del sóleo de la pata operada (medición mediante pQCT), y del gastrocnemio, músculo plantar y sóleo de la pata no operada (medición del peso). La hipertrofia de la pata operada es una reacción compensatoria de los músculos restantes tras la extirpación del músculo gastrocnemio. La hipertrofia de la pata no operada se debe a un efecto de entrenamiento especial, porque esta pata se usó más.

El peso húmedo del músculo gastrocnemio no operado (con respecto al peso corporal) aumentó en un 7 % en el grupo que recibió trigonelina (FIGURA 2).

Se aumentó el peso húmedo absoluto y relativo (en comparación con el peso corporal de los animales) de todos los músculos analizados de la pata no operada.

En la pata operada, también aumentaron el peso total de la pata y el área de la sección transversal del músculo, según lo evaluado usando la medición de tomografía computerizada. Los datos se muestran en la Tabla 1.

TABLA 1

Parámetros	Control (n = 10)	Clorhidrato de trigonelina 300 mg/kg/PC (n = 10)
Peso húmedo del M. gastrocnemio (mg) (pata no operada)	98,5	99,3
Peso húmedo del M. plantar (mg) (pata no operada)	12,4	13
Peso húmedo del sóleo (mg) (pata no operada)	7,1	7,2
Peso húmedo del M. gastrocnemio/peso corporal (mg/g) (pata no operada)	4,44	4,57
Peso húmedo del M. plantar/peso corporal (mg/g) (pata no operada)	0,56	0,60
Peso húmedo del sóleo/peso corporal (mg/g) (pata no operada)	0,32	0,33
Peso muscular del gastrocnemio-plantar-sóleo (toda la pata)/peso corporal (mg/g) (pata no operada)	5,32	5,50
Área de sección transversal total de la pata (mm <sup>2</sup> ) – pata no operada	33,90	35,05
Área de sección transversal muscular (mm <sup>2</sup> ) - pata no operada	26,27	32,15
Área de sección transversal total de la pata (mm <sup>2</sup> ) - pata operada	25,40	26,79
Área de sección transversal muscular (mm <sup>2</sup> ) - pata operada	19,13	23,72

Estos resultados muestran que, bajo carga, (tras la cirugía del músculo gastrocnemio-hipertrofia)/condiciones de entrenamiento, el peso húmedo del músculo esquelético aumentó en los animales.

## EJEMPLO 3

Atrofia muscular

Para ampliar los presentes resultados *in vitro* e *in vivo*, los presentes inventores también estaban interesados en probar los efectos de la trigonelina durante la descarga del músculo esquelético (condiciones de atrofia). Por lo tanto, se realizó un segundo estudio *in vivo* en el que se descargaron las extremidades posteriores de los animales para inducir la atrofia del músculo esquelético.

La suspensión de la cola conduce a la atrofia del músculo esquelético en los miembros posteriores descargados de los animales. Los resultados pueden transferirse a la situación humana: la sarcopenia (pérdida degenerativa de la masa y fuerza del músculo esquelético durante el proceso de envejecimiento) o la inmovilización del músculo esquelético (por ejemplo, tras un reposo prolongado en cama).

Se entregaron ratones C57B1/6 hembra con un peso de 18-20 g y se dejó que se aclimataran a las instalaciones durante un período de una semana. Al comienzo del estudio, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos (10 animales por grupo).

5 A continuación, se colocaron los grupos en jaulas especiales, y se descargaron las extremidades posteriores (suspensión de la cola) durante tres semanas. Todos los ratones se alojaron por separado y tuvieron acceso a alimento y agua a voluntad. Los animales se trataron durante tres semanas mediante alimentación por sonda con clorhidrato de trigonelina a una dosis diaria de 300 mg/kg/PC, y el grupo de control recibió vehículo.

10 Se encontró que el peso húmedo del músculo gastrocnemio (con respecto al peso corporal) aumentó en un 9 % (FIGURA 3), un resultado estadísticamente significativo.

También se compararon los otros dos músculos del miembro posterior operado (músculo plantar y sóleo). Los resultados, presentados en la siguiente TABLA 2, muestran un aumento de los pesos húmedos de los músculos en los animales tratados con clorhidrato de trigonelina en comparación con los animales de control (peso absoluto del músculo). Además, cuando los pesos musculares se normalizaron con respecto a los pesos corporales, los animales tratados con clorhidrato de trigonelina demostraron un aumento de la proporción del peso muscular/peso corporal (peso muscular relativo), es decir, una mejor composición corporal. El peso total de los músculos de una pata también aumentó significativamente cuando se trató con clorhidrato de trigonelina (pata entera con respecto al peso corporal). Las mediciones mediante tomografía computarizada del área total y muscular de la pata confirmaron que el tratamiento con clorhidrato de trigonelina aumenta la masa de músculo esquelético.

TABLA 2

Parámetros	Control (n = 10)	Clorhidrato de trigonelina 300 mg/kg/PC (n = 10)
Peso húmedo del M. gastrocnemio (mg)	78,13	86,01*
Peso húmedo del M. plantar (mg)	9,84	10,53
Peso húmedo del sóleo (mg)	4,29	4,62
Peso húmedo del M. gastrocnemio/peso corporal (mg/g)	3,83	4,16*
Peso húmedo del M. plantar/peso corporal (mg/g)	0,48	0,51*
Peso húmedo del sóleo/peso corporal (mg/g)	0,21	0,22
Peso muscular del gastrocnemio-plantar-sóleo (toda la pata)/peso corporal (mg/g)	4,52	4,89*
Área de sección transversal total de la pata (mm <sup>2</sup> )	29,1	30,4
Área de sección transversal muscular (mm <sup>2</sup> )	26,6	27,8
* significativo: $p \leq 0,05$		

25 Los resultados muestran que, bajo descarga/atrofia del área de la sección transversal total de la pata del animal, los pesos de músculo aumentan; es decir, se mantiene una mayor parte de la masa muscular durante la inactividad en los animales que recibieron complemento de trigonelina frente a los controles.

EJEMPLO comparativo 4

30

Resistencia

Para probar el efecto de la trigonelina en animales no entrenados, se realizó ensayo de resistencia máxima tras un período de tratamiento de tres semanas.

35

Se entregaron ratones C57B1/6 hembra con un peso de 18-20 g y se dejó que se aclimataran a las instalaciones durante un período de una semana. Al comienzo del estudio, los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos (10 animales por grupo). Todos los ratones se alojaron por separado y tuvieron acceso a alimento y a agua a voluntad. Los animales se trataron durante tres semanas mediante alimentación por sonda con clorhidrato de trigonelina a una dosis diaria de 300 mg/kg/PC, y el grupo de control recibió vehículo.

40

Para la aclimatación, los animales se colocaron en una cinta de correr durante 5 minutos después de dos semanas. El ensayo de resistencia máxima se realizó dos días antes de la sección de los animales.

45

## ES 2 688 424 T3

Se encontró que el peso húmedo del músculo gastrocnemio era igual en ambos grupos (FIGURA 4), al igual que el peso húmedo de los otros músculos evaluados (datos no mostrados). Además, la resistencia de los animales desentrenados no se vio influida por 3 semanas de administración de complemento de trigonelina.

Parámetros	Control (n = 10)	Clorhidrato de trigonelina 300 mg/kg/PC (n = 10)
Tiempo medio corriendo (minutos)	39,00	38,70
Peso húmedo del M. gastrocnemio (mg)	100,65	100,66
Peso húmedo del M. plantar (mg)	12,16	12,12
Peso húmedo del sóleo (mg)	6,28	6,29
Peso húmedo del M. gastrocnemio/peso corporal (mg/g)	4,64	4,57
Peso húmedo del M. plantar/peso corporal (mg/g)	0,56	0,55
Peso húmedo del sóleo/peso corporal (mg/g)	0,29	0,29
Peso muscular del gastrocnemio-plantar-sóleo (toda la pata)/peso corporal (mg/g)	5,49	5,41

5 Estos resultados muestran que la trigonelina no tiene efecto sobre la resistencia ni la masa del músculo esquelético en ratones no entrenados.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, para su uso en un método de prevención de la sarcopenia, la fragilidad en los ancianos o la pérdida de músculo esquelético.
2. Trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el uso es para períodos de menor actividad muscular o inmovilidad asociada con el reposo en cama debido a una enfermedad, una cirugía y estancias hospitalarias más prolongadas.
- 10 3. Trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la pérdida de músculo está asociada con el músculo que no se usa o que no se usa enérgicamente.
4. Trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que se usa en forma de una composición dietética, nutricional o farmacéutica.
- 15 5. Una composición dietética, nutricional o farmacéutica que comprende trigonelina, y/o una sal o un éster de la misma, de acuerdo con la reivindicación 4 que comprende además niacina.
- 20 6. Una composición dietética, nutricional o farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende además proteína y/o vitamina/s.
7. Una composición dietética, nutricional o farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6, en la que la vitamina se selecciona de vitamina D o un metabolito de la misma.
- 25 8. Una composición dietética, nutricional o farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el metabolito de vitamina D se selecciona de 25-hidroxivitamina D3.
- 30 9. Un método no terapéutico para retrasar el inicio de la atrofia muscular cuando el músculo no se usa o no se usa enérgicamente, que comprende administrar trigonelina, y/o una sal de la misma, en forma de una composición dietética o nutricional.
- 35 10. Un método no terapéutico de acuerdo con la reivindicación 9, en el que la composición dietética o nutricional comprende además niacina.
11. Un método no terapéutico de acuerdo con la reivindicación 9 o 10, en el que la composición dietética o nutricional comprende vitamina D y/o un metabolito de vitamina D.
- 40 12. Un método no terapéutico de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, en el que la cantidad de trigonelina que se va a administrar en la composición dietética o nutricional está en el intervalo de al menos 5 mg al día para un ser humano.

FIGURA 1

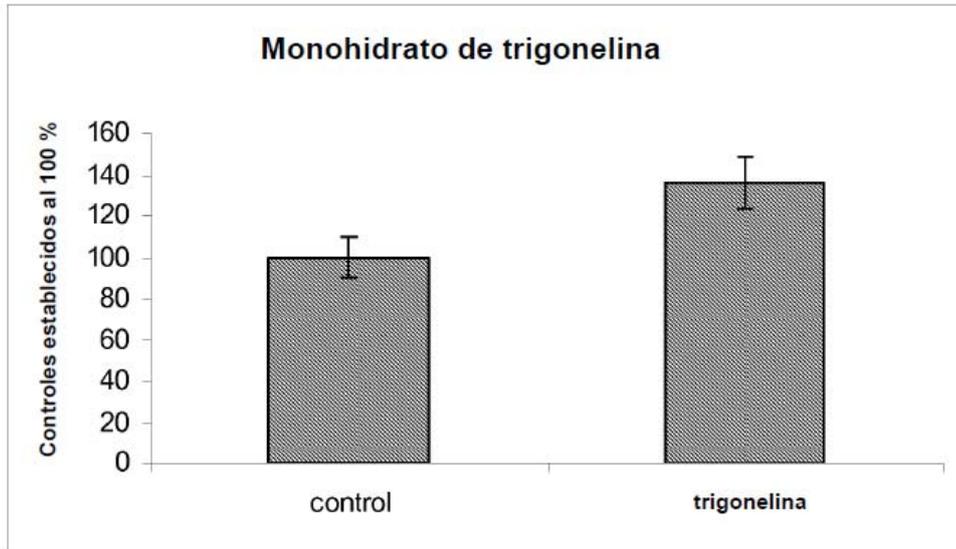


FIGURA 2

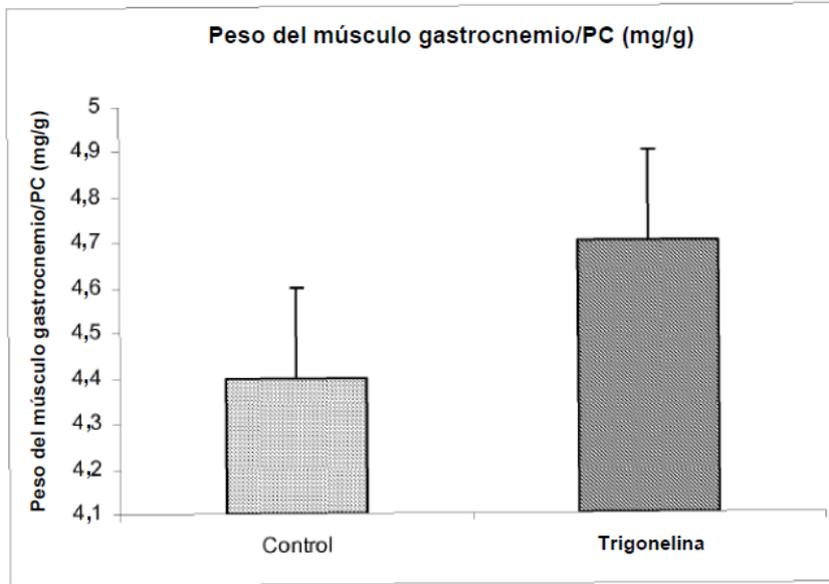
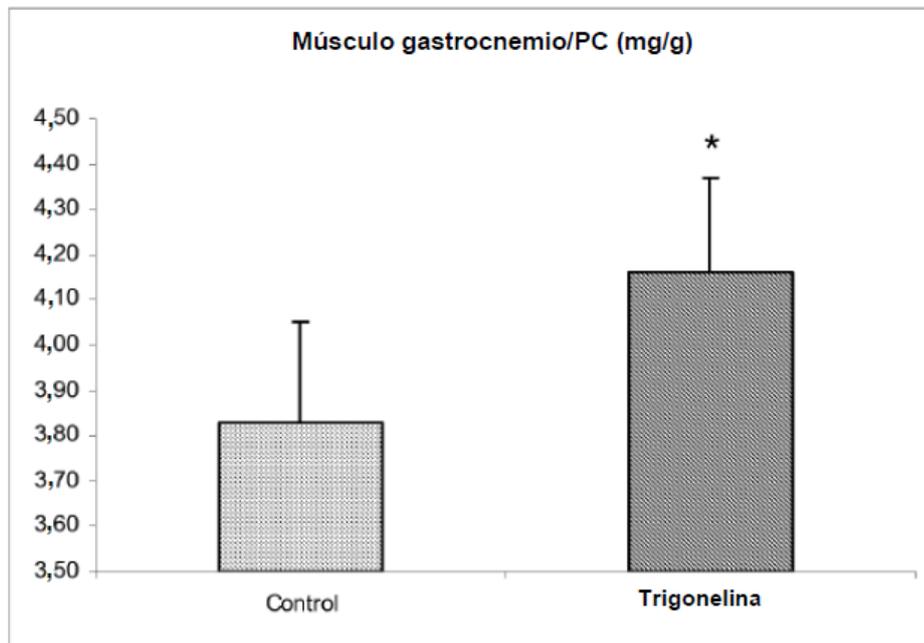


FIGURA 3



\* Significante:  $p \leq 0,05$

FIGURA 4

