

(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: 2001.02.16	(73) Titular(es): N.V. NUTRICIA STATIONSSTRAAT 186 2712 HM ZOETERMEER NL
(30) Prioridade(s): 2000.02.16 DE 10006989	
(43) Data de publicação do pedido: 2003.01.02	
(45) Data e BPI da concessão: 2011.07.27 218/2011	(72) Inventor(es): GÜNTHER BOEHM DE BERND STAHL DE
	(74) Mandatário: MARIA MANUEL RAMOS LUCAS LARGO DE S. DOMINGOS N° 1 2910-092 SETÚBAL PT

(54) Epígrafe: **HIDRATOS DE CARBONO ANTI-ADESIVOS**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO REFERE-SE A UMA PREPARAÇÃO FARMACÊUTICA OU DIETÉTICA QUE SERVE PARA REDUZIR E/OU BLOQUEAR A ADERÊNCIA DAS SUBSTÂNCIAS PATOGENAS E DOS ORGANISMOS ÀS CÉLULAS EUCARIOTAS, ESPECIALMENTE CÉLULAS DE MAMÍFEROS. DITA PREPARAÇÃO CONTÉM PELO MENOS UM HIDRATO DE CARBONO COM UMA UNIDADE DE ÁCIDO URÓNICO NUMA DAS SUAS EXTREMIDADES. ENTRE 10 E 100% DAS UNIDADES DE ÁCIDO URÓNICO TERMINAIS QUE PERTENCEM AOS HIDRATOS DE CARBONO DA PRESENTE INVENÇÃO ESTÃO PROVIDOS COM UMA LIGAÇÃO DUPLA QUE ESTÁ ESPECIALMENTE SITUADA ENTRE O ÁTOMO C4 E C5.

RESUMO

A invenção refere-se a uma preparação farmacêutica ou dietética que serve para reduzir e/ou bloquear a aderência das substâncias patogênicas e dos organismos às células eucariotas, especialmente células de mamíferos. Dita preparação contém pelo menos um hidrato de carbono com uma unidade de ácido urônico numa das suas extremidades. Entre 10 e 100% das unidades de ácido urônico terminais que pertencem aos hidratos de carbono da presente invenção estão providos com uma ligação dupla que está especialmente situada entre o átomo C_4 e C_5 .

DESCRIÇÃO

HIDRATOS DE CARBONO ANTI-ADESIVOS

A invenção refere-se a uma preparação farmacêutica ou dietética, que contém vários hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido ursónico numa das suas extremidades, e à utilização desta preparação para a fabricação de um produto dietético ou farmacêutico contra os diferentes estados de doença de acordo com as reivindicações de 1 a 13.

A adesão de organismos patogenos assim como das substâncias que danam as células na superfície das células do mamífero é a primeira etapa e um requisito prévio indispensável para uma infecção ou deterioração da célula. A interacção entre os patogenos e as células é levada a cabo mediante uma relação ligando-receptor, que por seu lado é um factor de virulência ou de toxicidade importante dos patogenos. Como patogenos deverá ser entendido pelo menos bactérias, vírus, fungos, parasitas unicelulares e pluricelulares, toxinas e catiões de metais pesados. Nesta relação ligando-receptor, as glicoestructuras desempenham um papel importante.

Uma possibilidade para pelo menos reduzir ou impedir completamente esta relação ligando-receptor, consiste no bloqueio dos respectivos receptores na superfície celular ou no ligando.

Utilizando sistemas de prova específicos, pode ser demonstrado que as diferentes misturas dos hidratos de carbono reduzem ou impedem completamente a adesão de, por exemplo, microrganismos à superfície celular, ver: Kunz, C.; Rudloff, S. Acta Paediatr. 1993, 82, 903-912. Portanto, é suposto que os hidratos de carbono eficazes têm uma analogia considerável com as estruturas do receptor ou do ligando. Nos estudos descritos foram utilizados numerosos hidratos de carbono, tanto de origem animal

como de origem vegetal e também produtos da hidrólise dos polissacarídeos vegetais.

A composição e a estrutura dos hidratos de carbono existentes na natureza e dos hidratos de carbono do leite humano, por exemplo, são muito complexas. O mesmo é também válido para os hidratos de carbono de origem vegetal ou produtos da hidrólise dos hidratos de carbono de origem vegetal. Daí resulta que o efeito anti-adesivo constatado dos hidratos de carbono para os patógenos nas células de mamífero foi levada a cabo, na maior parte dos casos, com misturas dos hidratos de carbono e não com estruturas individuais purificadas.

É por exemplo sabido que os extractos aquosos, assim como os sucos de diferentes produtos vegetais, são eficazes contra as doenças no tracto intestinal e urogenital produzidas por germes patógenos. No documento PCT/EP 94/03006 (WO 95/07084) é descrito que com uma sopa de cenouras, um chá diurético, um leite de coco etc., preparados de uma determinada forma, a aderência dos germes patógenos às células epiteliais do tracto gastrointestinal e urogenital é consideravelmente reduzida. Supõe-se que as responsáveis deste efeito são as pectinas existentes nos produtos vegetais, as quais são essencialmente cadeias de galacturónicos unidas por ligações 1,4- α -glicosídicas. Os galacturónicos realmente eficazes devem ainda cumprir diferentes critérios, isto é, um grau determinado de polimerização e de metilação.

O Pedido de Patente alemã DE 195 03 423 A descreve a utilização de uma união ou várias uniões do grupo dos hidratos de carbono ou derivados dos hidratos de carbono como substâncias anti-adesivas em relação aos microrganismos. Preferencialmente para isso são utilizadas substâncias activas com estruturas de açúcar. As estruturas de açúcar utilizáveis são de muitos tipos. As substâncias nela descritas podem encontrar aplicação tanto em

preparações cosméticas e dermatológicas como também em produtos orais ou parenterais.

O Pedido Internacional de Patente WO 98/06418 A descreve um suplemento dietético que pode conter um ou vários sacarídeos determinados.

O Pedido de Patente alemã DE 30 46 414 A1 refere-se à aplicação de farelo e de uma substância vegetal insuflada e espessante como a pectina, para a fabricação de um produto obtido por cozedura para ser usado como produto alimentar dietético e como medicamento com efeito redutor de lípidos.

Do Pedido de Patente norte-americana US 4 619 831 A é conhecida a fabricação de uma composição dietética que contém uma fibra, que é obtida por revestimento de uma fibra insolúvel com uma fibra solúvel. Preferencialmente a fibra solúvel é uma pectina ou um alginato.

O Pedido de Patente japonesa JP-A 10-226701 descreve uma mistura anti-bacteriana de galacturónicos saturados com entre 6 e 15 unidades de monómeros e 4,5 galacturónicos insaturados com entre 2 e 15 unidades de monómeros. Estes galacturónicos são obtidos da pectina.

O objecto da presente invenção é mostrar um modo de como, com a ajuda dos hidratos de carbono, a adesão de patogenos é reduzida ou impedida mediante a interacção com ligandos e/ou com estruturas de superfícies das células eucariotas e particularmente células de mamífero.

Esta objecto é resolvido pelo ensinamento técnico das reivindicações.

É sabido que os hidratos de carbono têm pelo menos duas extremidades e podem ter também três ou mais extremidades,

quando são ramificados. Portanto de acordo com a invenção, podem ser utilizados hidratos de carbono de cadeia linear e também hidratos de carbono de cadeia ramificada. Numa destas extremidades está a mencionado unidade de ácido urónico, que tem um grupo COOH terminal, que pode estar esterificado. Os ácidos urónicos preferidos ou unidades de ácido urónico são os seguintes ácidos livres ou esterificados: ácido galacturónico, ácido glucurónico, ácido gulurónico, ácido idurónico, ácido manurónico, ácido riburónico e ácido altrurónico, dos quais os particularmente preferidos são o ácido galacturónico e o ácido glucurónico.

A preparação tem vários hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico terminal.

Como hidrato de carbono anti-adesivo, no âmbito da presente invenção, entender-se-á um hidrato de carbono que tem uma unidade de ácido urónico terminal, independentemente de se esta unidade de ácido urónico tem ou não uma ligação dupla. Por outras palavras, a expressão hidratos de carbono anti-adesivos indica a soma dos hidratos de carbono com uma unidade de ácido urónico, que tem uma ligação dupla, e os hidratos de carbono, que têm uma unidade de ácido urónico, mas que no entanto não têm nenhuma ligação dupla. Uma conceito essencial da invenção consiste em que os hidratos de carbono anti-adesivos que são utilizados são os que têm um teor mínimo de unidades de ácido urónico com uma ligação dupla.

Os hidratos de carbono anti-adesivos podem ter um grau de polimerização determinado, que geralmente e doravante é também abreviado neste documento como DP. No entanto, habitualmente existem hidratos de carbono anti-adesivos com DP diferentes, com o qual também os hidratos de carbono anti-adesivos com um grau de polimerização determinado ou DP podem estar compostos de forma diferente. Podem existir várias espécies de hidratos de carbono anti-adesivos compostos de forma diferente com o mesmo

DP. Podem ainda existir hidratos de carbono anti-adesivos com diferente DP, com o que para cada grau de polimerização podem existir uma ou várias espécies de hidratos de carbono anti-adesivos.

Com a definição dos hidratos de carbono anti-adesivos especificados com mais detalhe anteriormente, que exibem numa extremidade uma unidade de ácido urónico, não foi feita nenhuma declaração sobre a natureza de outras unidades de sacarídeos ou unidades de monómeros, de que estes hidratos de carbono anti-adesivos estão compostos, a não ser que o hidrato de carbono anti-adesivo consista unicamente numa unidade (grau de polimerização = DP1), isto é, numa unidade de ácido urónico. Sempre e quando o hidrato de carbono anti-adesivo tenha um DP1, este consiste exclusivamente numa unidade de ácido urónico deste tipo. Se o hidrato de carbono anti-adesivo tem um DP2 ou mais alto, os outros sacarídeos ligados com a unidade de ácido urónico podem ser de qualquer tipo.

Das unidades de ácido urónico existentes nos hidratos de carbono anti-adesivos, pelo menos entre 10 e 100% devem ter uma ligação dupla. Assim a indicação % indica o número total das unidades de ácido urónico existentes com uma ligação dupla numa das extremidades dos hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico deste tipo, referido à soma destas unidades de ácido urónico com uma ligação dupla e no seu caso as unidades de ácido urónico existentes sem uma ligação dupla deste tipo numa extremidade dos hidratos de carbono anti-adesivos.

Uma unidade de ácido urónico numa extremidade de um hidrato de carbono anti-adesivo é denominado neste documento também como unidade de ácido urónico terminal.

Os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção, que têm numa extremidade um destes ácidos urónicos, podem ter na outra extremidade (no caso de uma cadeia não

ramificada) uma unidade de sacarídeo não redutora ou também uma unidade de sacarídeo redutora. Preferencialmente entre 10 e 100% dos hidratos de carbono anti-adesivos que têm uma unidade de ácido urónico terminal, têm na outra extremidade (no caso de uma cadeia linear) ou numa das outras extremidades (no caso de uma cadeia ramificada) uma unidade de sacarídeo redutora deste tipo. Por outras palavras, entre 10 e 100% das unidades de ácido urónico terminais estão situadas numa extremidade não redutora. Consequentemente, inclusive todas as unidades de ácido urónico terminais existentes, podem estar na extremidade não redutora.

De 50 a 100% das ligações duplas estão entre os átomos C₄ e C₅ das unidades de ácido urónico terminais. Também neste caso a indicação % refere-se ao número de ligações duplas, independentemente dos DP dos hidratos de carbono anti-adesivos e das unidades de sacarídeos que constituem estes hidratos de carbono anti-adesivos. A detecção da ligação dupla e, consequentemente, das unidades de ácido urónico terminais com uma ligação dupla deste tipo pode ser realizada de forma espectroscópica a 235nm, utilizando o coeficiente de extinção molar de 5500 l/mol cm, ver TP Kravtchenko, I. Arnould, AGJ Voragen & W. Polnik Carbohydr. Polymer 1992, 19, 237-242.

A determinação dos hidratos de carbono com uma extremidade redutora é realizada por meio da iodometria de acordo com as indicações em: Analytical Chemistry of Carbohydrates H. Scherz, G. Bonn, Editor Thieme Organic Chemistry Monograph Series, Stuttgart, New York, editorial Thieme 1998, página 32. Os hidratos de carbono exclusivamente com extremidades não redutoras, podem ser determinados com os procedimentos analíticos habituais, como a osmometria, espectrometria de massas (por exemplo MALDI-MS, ESI-MS), cromatografia (por exemplo GPC, HPAEC, HPLC) e electroforese capilar, ou com uma combinação destes procedimentos.

Os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção podem juntamente com uma unidade de ácido urónico ter também uma extremidade não redutora, por exemplo, transportando uma extremidade redutora posteriormente a uma extremidade não redutora. Isto por exemplo pode ser obtido com uma oxidação, redução ou também com a união da extremidade redutora com outras moléculas. A estas outras moléculas pertencem por exemplo proteínas, lípidos e polímeros técnicos, com o que são obtidos (neo) glucoconjugados. Esta mudança ulterior da extremidade redutora não tem nenhuma influência sobre o efeito anti-adesivo dos hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção. Portanto, estes hidratos de carbono anti-adesivos poderão também estar imobilizados nos portadores conhecidos através de uma extremidade "antes" redutora, por exemplo, num portador habitual.

Assim, quando de entre 10 e 100% das unidades de ácido urónico terminais existentes têm uma ligação dupla, isto naturalmente significa também que de entre 0 e 90% das unidades de ácido urónico terminais existentes não têm uma ligação dupla deste tipo. Preferencialmente de entre 10 e 50% das unidades de ácido urónico terminais existentes do hidrato de carbono anti-adesivo ou dos hidratos de carbono anti-adesivos têm uma ligação dupla.

Surpreendentemente foi descoberto que ao contrário da ensinamento técnico inicialmente mencionado no Pedido Internacional de Patente WO 95/07084, nem o grau de polimerização nem o grau de metilação são responsáveis de uma função anti-adesiva marcada, apesar de eventualmente alguns dos hidratos de carbono nela descritos possam ter uma função deste tipo. Uma função anti-adesiva marcada é melhor desempenhada pelos hidratos de carbono com uma unidade de ácido urónico que têm uma ligação dupla. No entanto, este tipo de hidratos de carbono anti-adesivos, e particularmente aqueles cuja unidade de ácido urónico tem a ligação dupla entre o átomo C₄ e o C₅, não são obtidos de acordo com o ensinamento técnico do citado Pedido

de Patente Internacional WO 95/07084, isto ver-se-á com mais detalhe seguidamente.

Quando se fala de um hidrato de carbono anti-adesivo com um grau de polimerização dado, então só pode tratar-se de um único hidrato de carbono anti-adesivo. No entanto, também pode tratar-se de vários hidratos de carbono anti-adesivos construídos de forma diferente, cujas características comuns são, por um lado, o grau de polimerização dado e, por outro, a unidade de ácido urónico terminal.

Preferencialmente a preparação de acordo com a invenção não só tem vários hidratos de carbono anti-adesivos com um DP dado, mas também vários hidratos de carbono anti-adesivos com graus de polimerização diferentes. Portanto, os hidratos de carbono anti-adesivos utilizados têm preferencialmente um grau de polimerização de entre DP2 e DP 40 e particularmente de entre DP 2 e DP 10 e como máximo de DP100. Preferencialmente, são por conseguinte utilizadas misturas dos hidratos de carbono anti-adesivos com diferentes comprimentos de cadeia. Também neste caso, num hidrato de carbono anti-adesivo com um comprimento de cadeia determinado ou um grau de polimerização dado, pode-se tratar de uma só espécie de hidratos de carbono ou de várias, ou de uma quantidade arbitrariamente grande de espécies de hidratos de carbono anti-adesivos.

Portanto, os hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico terminal, particularmente com uma ligação dupla na extremidade não redutora, têm um efeito anti-adesivo reforçado. Estes hidratos de carbono anti-adesivos são também denominados hidratos de carbono insaturados dentro do âmbito da presente invenção.

Os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção e, por conseguinte, também os hidratos de carbono anti-adesivos insaturados podem ser obtidos, por exemplo, separando

de tal maneira o hidrato de carbono ácido e preferencialmente os hidratos de carbono que contêm o ácido urónico por meio de clivagem enzimática ou química, com que são obtidas as concentrações indicadas nas unidades de ácido urónico com uma ligação dupla. Como hidratos de carbono de partida preferidos, podem ser utilizados os seguintes: pectinas, pectatos, alginatos, condroitinas, ácidos hialurónicos, heparina, heparanos, hidratos de carbono bacterianos e outros hidratos de carbono com ácido urónico. As matérias primas preferidas são, portanto, plantas e/ou elementos vegetais (como cenouras, frutos cítricos, beterrabas e maçãs, ver C. Rolin, BU Nielsen, & PE Glahn in Polysaccharides (ed. S. Dimitriu), Marcel Dekker New York 1998. Também podem ser usadas algas, tecidos animais e produtos bacterianos.

Se os hidratos de carbono anti-adesivos insaturados são produzidos por meio da clivagem química, então esta deve ser feita de tal maneira, que uma ligação dupla via uma eliminação β seja introduzida, onde por exemplo as pectinas em condições neutras ou debilmente básicas são separadas, ver MJH Keijbets & W. Pilnik Carbohydr. Res. 1974, 33, 359-362.

A clivagem enzimática é realizada particularmente com a ajuda das liases (como a pectina liase ou a pectato liase) ou preparações enzimáticas com conteúdo de liases.

No caso da clivagem química, trabalha-se em condições neutras até alcalinas, para assim obter o conteúdo desejado das ligações duplas. Com a escolha adequada dos outros parâmetros, como a temperatura, o pH e a concentração de tampão, o grau de esterificação do grupo carboxil e/ou do grupo hidroxil. Com graus de esterificação mais altos dos compostos de partida empregues (por exemplo pectinas) podem ser obtidos os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção e

portanto também os hidratos de carbono anti-adesivos insaturados igualmente com uma clivagem efectuada na zona ácida débil.

O efeito anti-adesivo dos hidratos de carbono anti-adesivos insaturados também está influenciado pela existência de ésteres metílicos do grupo carboxil, assim como pela existência de ésteres de acetil por exemplo no átomo C-2 e/ou C-3 dos ácidos urónicos. Isto é particularmente válido no caso dos ácidos galacturónicos das pectinas. O grau de metilação é de entre 20 e 50%.

Como já foi indicado, preferencialmente a mistura dos hidratos de carbono anti-adesivos empregue de acordo com a invenção, depende especialmente da ligação dupla que particularmente está situada na extremidade não redutora das unidades de ácido urónico. Nas outras unidades de sacarídeos que formam uma ligação dupla ou não formam essa ligação dupla com a unidade de ácido urónico, pode tratar-se exclusivamente de hidratos de carbono ácidos, exclusivamente de unidades de hidratos de carbono e de uma mistura de unidades de hidratos de carbono ácidos e neutros. Desta forma as unidades de hidratos de carbono neutras influenciam também no efeito anti-adesivo dos hidratos de carbono anti-adesivos insaturados. Este são essencialmente de ramnose, arabinose, galactose, xilose, glicose, fucose e apiose, que por seu lado podem ser ligados de novo com ésteres de feroil e substâncias fenólicas. Este é especialmente o caso das pectinas. A proporção das unidades de hidratos de carbono neutras é preferencialmente como máximo 50% e particularmente entre 0 e 30%.

O efeito anti-adesivo da mistura utilizada dos hidratos de carbono anti-adesivos não depende da concentração num produto final, mas da quantidade administrada. Por conseguinte, a preparação de acordo com a invenção pode exclusivamente estar constituída por uma mistura dos hidratos de carbono anti-adesivos. Para isso, a preparação é por exemplo formulada como

comprimidos ou como suplementos alimentares. Naturalmente, no caso de uma preparação farmacêutica, podem estar presentes portadores, diluentes e/ou adjuvantes usuais aceites na Indústria Farmacêutica. Estes hidratos de carbono anti-adesivos pode ser incorporados em qualquer alimento ou preparação farmacêutica que contenha outros ingredientes. No caso de alimentos, estes podem ser gorduras, proteínas, minerais, oligoelementos, vitaminas e outros materiais adequados para a fabricação de alimentos. Além disso, é possível usar os hidratos de carbono empregues de acordo com a invenção conjuntamente com outros hidratos de carbono de qualquer tipo.

De acordo com uma forma de preferida de realizar a invenção, esta refere-se a outros hidratos de carbono de uma mistura dos hidratos de carbono prebióticos de acordo com o ensinamento técnico do Pedido Internacional de Patente WO 00/08948 com o número de referência internacional PCT/EP99/05878 e, por conseguinte, de uma mistura dos hidratos de carbono prebióticos de dois componentes dos hidratos de carbono A e B diferentes essencialmente solúveis, que se mantêm sem digerir no tracto gastrointestinal e atingem o intestino grosso sem serem reabsorvidos, onde o componente do hidrato de carbono A está composto de pelo menos um monossacarídeo ou de pelo menos um oligossacarídeo (dissacarídeo até o hexassacarídeo) ou de uma mistura de dois ou vários destes sacarídeos, onde o componente dos hidratos de carbonos B está composto de um polissacarídeo (a partir de heptassacarídeo) ou de uma mistura de dois ou vários polissacarídeos, onde constituem o componente dos hidratos de carbono A = entre 5 e 95% em peso e o componente dos hidratos de carbono B = entre 5 e 95% em peso da soma dos componentes dos hidratos de carbono de A + B (= 100% em peso), e onde pelo menos 80% em peso dos hidratos de carbono/sacarídeos dos componentes dos hidratos de carbono A e B têm efeito prebiótico. No entanto, para os fins da presente invenção, só os hidratos de carbono que não tenham hidratos de carbono anti-adesivos com ácido urónico podem constituir os componentes dos hidratos de carbono A e os

componentes dos hidratos de carbono B. Por conseguinte, os hidratos de carbono anti-adesivos não se atribuem aos componentes A e B. estes hidratos de carbono, que constituem os componentes dos hidratos de carbono A e os componentes dos hidratos de carbono B, doravante serão denominados hidratos de carbono prebióticos para uma representatividade mais simples, apesar de que só uma parte destes hidratos de carbono actue de forma prebiótica.

Pelo menos 80% em peso dos hidratos de carbono ou sacarídeos denominados prebióticos da soma dos componentes dos hidratos de carbono A e B actuam, por conseguinte, de forma prebiótica. Preferencialmente, actuam de forma prebiótica pelo menos 80% em peso dos hidratos de carbono denominados como prebióticos, pertencentes ao componente dos hidratos de carbono A, e também pelo menos 80% em peso dos pertencentes ao componente dos hidratos de carbono B. Dito de outra forma, preferencialmente pelo menos respectivamente 80% em peso dos hidratos de carbono denominado como prebiótico ou o sacarídeo dos componentes dos hidratos de carbono A e B deve atingir o intestino grosso sem ser digerido (e portanto sem ser reabsorvido no intestino delgado). Por outras palavras, estes hidratos de carbono ou sacarídeos dos componentes dos hidratos de carbono A e B não são reabsorvidos no tracto gastrointestinal, nem no estômago, nem no intestino delgado, mas como tais atingem o intestino grosso.

Como hidratos de carbono solúveis dos componentes dos hidrato de carbono A e B entender-se-ão aqueles que na água numa concentração de pelo menos 1g/l à temperatura ambiente dêem lugar a uma solução homogénea no sentido físico (por exemplo de acordo Römpps Chemie Lexikon).

Portanto, a proporção dos hidratos de carbono sem efeito prebiótico ou sacarídeos nos componentes dos hidratos de carbono A e B é como máximo 20% em peso. No caso destes hidratos de carbono ou sacarídeos, refere-se a aqueles que sendo solúveis,

podem ser segregados sem digerir. Estes hidratos de carbono podem provocar um efeito físico, enquanto que, por exemplo, aumentam o volume das fezes ou exercem uma ligação de água.

Preferencialmente, os hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos que constituem o componente dos hidratos de carbono A têm uma estrutura diferente à dos hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos que constituem o componente dos hidratos de carbono B. Além disso, é preferido que pelo menos 80% em peso dos hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos dos componentes dos hidratos de carbono A e B, transportem bactérias lácticas e/ou sejam bifidogénicos. Preferencialmente a parte de peso do componente dos hidratos de carbono A, é maior do que a parte de peso do componente dos hidratos de carbono B. O componente dos hidratos de carbono A é preferencialmente entre 95 e 60% em peso e particularmente aproximadamente de 90% em peso, enquanto que o componente dos hidratos de carbono B é preferencialmente de entre 5 e 40% em peso e particularmente aproximadamente de 10% em peso, com o que $A + B = 100\%$ em peso. Os hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos dos componentes dos hidratos de carbono A e B particularmente não têm unidades de glicose numa ligação $\alpha 1-4$ e/ou em $\alpha 1-6$. Os hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos do componente dos hidratos de carbono B preferencialmente estão compostos por um máximo de 100 unidades de monossacarídeos.

Além disso, preferencialmente pelo menos 60% em peso e particularmente entre 80 e 100% em peso dos hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos do componente dos hidratos de carbono A pertencem ao grupo dos galacto-oligossacarídeos, e pelo menos 60% em peso e particularmente entre 80 e 100% em peso dos hidratos de carbono/sacarídeos prebióticos do componente dos hidratos de carbono B, pertencem ao grupo dos polissacarídeos de frutose.

Se uma mistura dos hidratos de carbono prebióticos deste tipo está presente nas preparações de acordo com a invenção, então, o rácio de peso dos hidratos de carbono anti-adesivos e a mistura dos hidratos de carbono prebióticos, é preferencialmente de entre 1:99 e 99:1 e particularmente de entre 1:10 e 10:1 e mais particularmente de aproximadamente 1:1.

Além disso, nas preparações de acordo com a invenção, além dos hidratos de carbono anti-adesivos e da eventual existência da mistura dos hidratos de carbono prebióticos, podem existir também outros tipos de hidratos de carbono habituais. Estes podem ser os hidratos de carbono insolúveis, os hidratos de carbono solúveis assim como digeríveis, os hidratos de carbono primários usuais que têm como finalidade objectivos nutritivos (por exemplo amido, malto-dextrinas, lactose e sacarose), ou de uma mistura de um ou vários destes hidratos de carbono. Preferencialmente os hidratos de carbono anti-adesivos nestes casos terão entre 0,1 e 30 e particularmente entre 1 e 10% em peso.

Com os oligossacarídeos anti-adesivos foram obtidas substâncias patogénicas que não se ligam às células de mamífero ou que os patogenos já ligados desprendem-se. Com a adição dos oligossacarídeos prebióticos é obtida a correcção da alteração da flora intestinal que na maioria das vezes se dá em relação aos patogenos. Além disso, luta-se noutros lugares fora do tracto gastrointestinal contra os patogenos, como, por exemplo, no tracto urogenital, no tracto respiratório, no sistema sanguíneo e na pele, mediante o efeito sistémico de uma flora intestinal equilibrada.

Devido a que a adesão do patogeno é uma condição para a infecção ou toxicidade em todas as células do organismo de um mamífero, os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção não só podem ser usados para impedir ou reduzir as

infecções ou danos no tracto gastrointestinal, mas também em todas as células.

Consequentemente, é também objecto da invenção a utilização das preparações de acordo com a invenção e dos hidratos de carbono anti-adesivos nela empregues, para a fabricação de uma preparação farmacêutica ou dietética para o tratamento de infecções do tracto gastrointestinal, do sistema sanguíneo, das vias respiratórias, do tracto urogenital, do espaço nasofaríngeo.

A sua utilização não está limitada a alimentos ou preparações farmacêuticas administradas por via entérica. Mas os hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção podem também serem usados como substância activa nas preparações farmacêuticas que não são administradas por via entérica. Consequentemente, nas preparações de acordo com a invenção estas podem também ser preparações farmacêuticas do tipo que não são administradas por via entérica.

A quantidade de administração dos hidratos de carbono anti-adesivos empregues de acordo com a invenção e portanto da soma dos hidratos de carbono que têm uma unidade de ácido urónico terminal sem uma ligação dupla, e dos hidratos de carbono que têm igualmente uma unidade de ácido urónico terminal, esta com uma ligação dupla (hidratos de carbono insaturados), onde entre 10 e 100% das unidades de ácido urónico terminais têm uma ligação dupla deste tipo, somam como mínimo 8 mg/kg por peso corporal e dia, preferencialmente de entre 8 e 20 mg/kg por peso corporal e dia e particularmente de forma aproximada 10 mg/kg por peso corporal e dia. Preferencialmente esta indicação refere-se em particular somente aos hidratos de carbono anti-adesivos insaturados.

Quando no âmbito da presente invenção nos referimos a intervalos, sejam por exemplo intervalos em % ou intervalos em

mg, então são descritos e reivindicados com estas indicações de intervalo, todos os valores intermédios e com eles todos os valores situadas entre os valores finais e também todos os intervalos mais estreitos compreendidos pelos intervalos. Assim, a indicação entre 8 e 20 mg/kg, compreende todos valores situados entre eles e particularmente os valores inteiros, por exemplo 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 mg/kg. Assim, a indicação do intervalo entre 10 e 100%, representa unicamente uma indicação abreviada para todos os valores intermédios imaginários e particularmente para os valores inteiros 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 e 99%. Isto é por exemplo válido para as indicações em % para a proporção das unidades de ácido urónico com uma ligação dupla. Também outros intervalos mais estreitos concebíveis ficam compreendidos e descritos por esta indicação. O mesmo é aplicado às indicações de intervalos, que se referem à % em peso, DP ou outras unidades.

Nos exemplos seguintes são descritos preparações preferidas de acordo com a invenção. Os exemplos de 1 a 7 referem-se à fabricação dos hidratos de carbono anti-adesivos, nos quais pelo menos 10% das unidades de ácido urónico presentes têm uma ligação dupla. Os produtos obtidos nestes casos representam preparações que são exclusivamente construídas dos hidratos de carbono anti-adesivos. Os exemplos de 8 a 13 descrevem misturas dos hidratos de carbono anti-adesivos e uma mistura prebiótica dos hidratos de carbono com diferentes proporções de peso.

Exemplo 1 (clivagem enzimática)

10 g pectina GENU USP/100 (Fa. Hercules, Copenhaga, DK) foram dissolvidas em 1 l 50 mM de tampão de NaOAc (pH 5,0). A esta

solução foram adicionados 10 ml de solução de pectina-liase (Sigma, Deisenhofen). A transformação foi realizada a 40 °C durante 24 h. A reação foi detida por aquecimento a 100 °C durante 10 min. A enzima e a pectina não transformada foram removidas por filtração com uma membrana de 50 kDa. Seguidamente o produto filtrado foi liofilizado.

Exemplo 2 (clivagem química)

10 g pectina GENU USP/100 (Fa. Hercules, Copenhaga, DK) foram dissolvidas em 1 l 0,2 M NH_3 de tampão de carbonato (pH 6,8) e aquecido durante 8 h a 80 °C. Os oligogalacturônicos obtidos foram precipitados como sal de metal (por exemplo sais de bário), filtrados, lavados, secos, foram depois convertidos em ácido livre mediante o permutador de iões Dowex-50 H^+ e foram liofilizados.

Exemplo 3 (clivagem enzimática)

10 g de pectina Laboron X-77 A (C.C.A. Klimmeck, Bad Zwischenahn) foram dissolvidas em 1 l 50 mM de tampão de acetato de sódio (pH 4,5). O processo de digestão é levado a cabo com 1 ml de solução de pectina-liase (Fa. Gist-Brocades, Seclin, França) a 45 °C durante 24 h. A reação foi detida por aquecimento a 95 °C durante 5 min. A enzima e a pectina não transformada foram removidas por filtração em gel com BioGel P2 ou TosoHaas HW 40 S. Posteriormente a fracção do oligossacarídeo foi liofilizada.

Exemplo 4 (clivagem enzimática)

10 g de pectina de faixa verde (Obipektin, Bischofszell, Suíça) foram dissolvidas em 1 l 50 mM de tampão de acetato de sódio (pH = 4,5). Foram adicionados 2 ml de Pectinex 3 XL (Fa. Novo Nordisk, Dittingen, Suíça). A solução foi aquecida durante 24 h a 50 °C. A detenção da reação foi realizada por aquecimento a

95 °C durante 5 min. Os oligogalacturónicos obtidos foram precipitados com etanol, lavados e secos.

Exemplo 5 (clivagem química)

10 g de pectina de faixa verde (Obipektin, Bischofszel, Suíça) foram dissolvidas em 1 l 0,1 M de tampão de fosfato de sódio (pH 6,8) e foram aquecidas durante 1 h a 90 °C. Os oligogalacturónicos libertados foram precipitados com etanol, lavados e secos.

Exemplo 6 (clivagem química)

10 g pectina GENU USP/100 (Fa. Hercules, Copenhaga, Dinamarca) foram dissolvidas em 1 l 0,1 M de tampão de fosfato de sódio (pH 6,8) e foram aquecidas durante 1 h a 95 °C. Os polímeros de cadeia longa foram centrifugados com ácido clorídrico com pH 2. O sobrenadante com os oligogalacturónicos foi liofilizado.

Exemplo 7 (clivagem enzimática)

10 g de alginato foram dissolvidas num 1 l 50 mM de tampão de NaAc (pH 4,6). A esta solução foi adicionada 10 ml de solução de alginato-liase. A clivagem foi realizada a 40 °C durante 24 h. A reacção foi detida por aquecimento a 100 °C durante 10 min. A enzima e o alginato não transformado foram removidos por filtração com uma membrana de 50 kDa. Seguidamente o produto filtrado foi liofilizado.

Exemplos de 8 a 13

Para a fabricação de uma preparação que além dos hidratos de carbono anti-adesivos contém também hidratos de carbono prebióticos, procede-se do seguinte modo.

10 g de oligogalacturónicos, que ou foram produzidos por clivagem enzimática de acordo com um dos exemplos 1, 3, 4 e/ou 7, ou foram produzidos por clivagem química de acordo com um dos exemplos 2, 5 e/ou 6, antes de serem secos eles tinham sido misturados com 10 g de uma mistura dos hidratos de carbono prebióticos de 9 partes de galacto-oligossacarídeos (por exemplo Elixor Fa. Borculo e Oligomate Fa. Yakult) e 1 parte de inulina de alto peso molecular (por exemplo raftilina HP Fa. Orafiti ou Frutafit TEX ou EXL. Fa Sensus ou fibrulina LC HAT Fa. Cosucra), foram aglomeradas e misturadas de acordo com as proporções de quantidade apresentadas no quadro seguinte.

Exemplo	8	9	10	11	12	13
Oligogalacturónico						
Clivagem enzimática	10g		10g		90g	
Clivagem química		10g		10g		90g
Mistura prebiótica	10g	10g	90g	90g	10g	10g

Em vez da mistura prebiótica dos hidratos de carbono a partir de galacto-oligossacarídeos e inulina acima mencionado, também podem ser empregues misturas dos hidratos de carbono constituídos pelos seguintes componentes:

α -galacto-oligossacarídeos e inulina, β -galacto-oligossacarídeos e galactomananos, fruto-oligossacarídeos e galactomananos, fruto-oligossacarídeos e arabinogalactanos, β -galactooligossacarídeos e arabinogalactanos, assim como xilo-oligossacarídeos e galactomananos.

Lisboa, 27 de Outubro de 2011

REIVINDICAÇÕES

1. Preparação farmacêutica ou dietética que contém vários hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico disposta numa das suas extremidades, e portanto terminal, onde

os hidratos de carbono anti-adesivos têm um grau de polimerização máximo de DP 100,

entre 10 e 100% das unidades de ácido urónico existentes situadas na extremidade dos hidratos de carbono anti-adesivos têm uma ligação dupla, e entre 50 e 100% das ligações duplas das unidades de ácido urónico terminais estão entre o átomo C₄ e C₅,

caracterizada por

o grau de esterificação dos hidratos de carbono anti-adesivos com metanol estar entre 20 e 50%.

2. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com a reivindicação 1,

caracterizada por

entre 10 e 100% dos hidratos de carbono anti-adesivos que têm uma unidade de ácido urónico terminal terem uma extremidade redutora e na outra extremidade ter a unidade de ácido urónico terminal.

3. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com a reivindicação 1 ou 2,

caracterizada por

entre 10 e 50% das unidades de ácido urónico terminais dos hidratos de carbono anti-adesivos existentes, terem uma ligação dupla.

4. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com as reivindicações anteriores,

caracterizada por

ela conter vários hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico terminal, os quais têm um grau de polimerização diferente.

5. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com as reivindicações anteriores,

caracterizada por

os hidratos de carbono anti-adesivos terem um grau de polimerização entre DP 2 e DP 40 e particularmente entre DP 2 e DP 10.

6. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com as reivindicações anteriores,

caracterizada por

os hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico terminal poderem ser obtidos dos hidratos de carbono contendo o ácido urónico que foram separados de forma química ou enzimática de tal maneira que podem ser obtidos os conteúdos indicados das unidades de ácido urónico terminais com uma ligação dupla.

7. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com uma das reivindicações anteriores,

caracterizada por

o conteúdo das unidades de açúcar neutras nos hidratos de carbono anti-adesivos descritos nas reivindicações anteriores serem de como máximo 50% e particularmente entre 0 e 30%.

8. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com uma das reivindicações anteriores,

caracterizada por

além dos hidratos de carbono anti-adesivos esta conter uma mistura prebiótica dos hidratos de carbono, de dois componentes dos hidratos de carbono diferentes A e B, essencialmente solúveis, os quais se mantêm no tracto gastrointestinal sem digerir e que atingem o intestino grosso sem ter sido reabsorvidos,

o componente dos hidratos de carbono A estar composto por pelo menos um monossacarídeo ou por pelo menos um oligossacarídeo (dissacarídeo até hexassacarídeo), ou pela mistura de dois ou mais destes sacarídeos,

o componente dos hidratos de carbono B estar composto por um polissacarídeo (a partir do heptassacarídeo) ou por uma mistura de dois ou mais polissacarídeos,

o componente dos hidratos de carbono A = entre 5 e 95% em peso e o componente dos hidratos de carbono B = entre 5 e 95% em peso da soma dos componentes dos hidratos de carbono A + B (= 100% em peso),

e pelo menos 80% em peso dos hidratos de carbono/sacarídeos dos componentes dos hidratos de carbono A e B terem um efeito prebiótico e

os hidratos de carbono que constituem o componente dos hidratos de carbono A e o componente dos hidrato de carbono B não representarem nenhum dos hidratos de carbono anti-adesivos de acordo com a reivindicação 1.

9. Preparação farmacêutica ou dietética de acordo com a reivindicação 8,

caracterizada por

o rácio em peso dos hidratos de carbono anti-adesivos para a mistura dos hidratos de carbono prebiótica é de entre 1:99 e 99:1 e particularmente entre 1:10 e 10:1 e mais particularmente aproximadamente de 1:1.

10. Preparação farmacêutica de acordo com uma das reivindicações anteriores,

caracterizada por

esta conter portadores, diluentes e/ou adjuvantes habituais aceites na Indústria Farmacêutica.

11. Preparação dietética de acordo com uma das reivindicações de 1 a 9,

caracterizada por

esta conter ingredientes de alimentos e compostos de alimentos habituais, incluindo vitaminas e oligoelementos.

12. Uso dos hidratos de carbono anti-adesivos com uma unidade de ácido urónico terminal descritos numa das reivindicações de 1 a 7 para a fabricação de uma preparação farmacêutica ou dietética para o tratamento de infecções do tracto gastrointestinal, do

sistema sanguíneo, das vias respiratórias, do tracto urogenital e do espaço nasofaríngeo.

13. Uso de acordo com a reivindicação 12,

caracterizado por

a preparação farmacêutica ou dietética ser administrada numa quantidade tal, que os hidratos de carbono anti-adesivos são administrados numa quantidade de entre 8 e 20 e particularmente de aproximadamente 10 mg/kg e dia.

Lisboa, 27 de Outubro de 2011