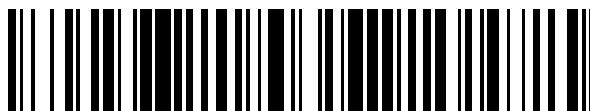


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 885 678**

51 Int. Cl.:

A61K 31/215 (2006.01)

A61K 31/22 (2006.01)

A61K 31/225 (2006.01)

A61P 21/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.08.2014 PCT/EP2014/067027**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2015 WO15018913**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.08.2014 E 14750206 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.06.2021 EP 3030231**

54 Título: **Cuerpo cetónico y éster de cuerpo cetónico para reducir la degradación muscular**

30 Prioridad:

07.08.2013 GB 201314127

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

15.12.2021

73 Titular/es:

**TDELTA LIMITED (100.0%)
30 Upper High Street
Thame OX9 3EZ, GB**

72 Inventor/es:

**CLARKE, KIERAN y
COX, PETER**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 885 678 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

Cuerpo cetónico y éster de cuerpo cetónico para reducir la degradación muscular

Esta invención se refiere al uso de un éster de D-β-hidroxiacetato para mejorar la resistencia durante el ejercicio y la recuperación muscular después del ejercicio.

5 El metabolismo de los sustratos en el cuerpo humano normal utiliza diferentes fuentes de combustible en función de su disponibilidad. Durante el ejercicio, el gasto energético se incrementa drásticamente por encima de los niveles de reposo, con una rápida movilización de los combustibles necesarios para mantener el ritmo de la demanda de ATP. Por lo general, a medida que aumenta la intensidad del ejercicio, la oxidación mitocondrial de los ácidos grasos alcanza un techo, desplazando la carga del suministro de energía a los hidratos de carbono, de modo que el
10 suministro glucolítico de piruvato es la principal fuente de carbono para la oxidación durante el ejercicio intenso.

En el estado de alimentación, el músculo utiliza glucosa y ácidos grasos para el metabolismo energético. Sin embargo, durante el ejercicio prolongado o intenso, las proteínas procedentes de la descomposición del músculo desempeñan un papel importante en el suministro de glucosa. A medida que el músculo se descompone, los niveles de los aminoácidos esenciales de cadena ramificada, leucina, isoleucina y valina, aumentan y proporcionan una
15 indicación del grado de descomposición muscular.

Junto con las grasas y los hidratos de carbono, el cuerpo metaboliza los cuerpos cetónicos para obtener energía. Los cuerpos cetónicos se producen en el hígado cuando los ácidos grasos se liberan de la grasa corporal durante el ayuno o la inanición. El aumento de las concentraciones de cuerpos cetónicos en la sangre, por ejemplo, mediante una dieta cetogénica, puede tener diversos beneficios clínicos, como el tratamiento de la epilepsia, la diabetes y la
20 enfermedad de Parkinson.

El documento WO2004/108740 divulga compuestos y composiciones que contienen derivados de D-β-hidroxiacetato eficaces para elevar las concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos y procedimientos para utilizar dichos compuestos, en particular los oligómeros y las composiciones, como suplementos nutricionales o para tratar afecciones médicas. Los derivados de D-β-hidroxiacetato y las composiciones que incluyen estos derivados pueden servir como precursores de los cuerpos cetónicos, acetoacetato y D-β-hidroxiacetato, y se dice que elevan las
25 concentraciones sanguíneas de cuerpos cetónicos cuando se administran a un sujeto.

El documento WO2004/105742 divulga el uso de un compuesto, por ejemplo, cuerpos cetónicos, que reducen los ácidos grasos libres que circulan en el plasma sanguíneo de un sujeto para el tratamiento o la prevención del músculo, en particular el cardíaco o el esquelético, el deterioro o la fatiga o la disfunción mitocondrial. También se divulgan composiciones líquidas para la rehidratación durante o después del ejercicio, que comprenden agua, un
30 carbohidrato de azúcar y un compuesto que reduce los ácidos grasos libres que circulan en el plasma sanguíneo.

Existe la necesidad de mejorar la resistencia durante el ejercicio y la recuperación muscular después del mismo, especialmente el ejercicio intenso en personas sanas.

Ahora hemos encontrado sorprendentemente que los ésteres de D-β-hidroxiacetato pueden reducir la pérdida de glucógeno muscular o hepático y la pérdida de proteínas en un sujeto durante el ejercicio, mejorar la resistencia durante el ejercicio y la recuperación muscular después del ejercicio. Se ha comprobado que el éster de D-β-hidroxiacetato aumenta la glucosa y el glucógeno del músculo esquelético, disminuye la glucólisis y alivia la
35 disminución significativa de leucina, isoleucina y valina intramuscular que se produce durante el ejercicio, en comparación con los cambios que se producen en el mismo sujeto tras la ingestión de una bebida calórica comparable de carbohidratos o grasas.
40

En un primer aspecto, la invención proporciona el uso de un éster de D-β-hidroxiacetato para mejorar la resistencia de un sujeto sano durante el ejercicio reduciendo la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas durante el ejercicio. La invención también proporciona el uso de un éster de D-β-hidroxiacetato para ayudar a la recuperación muscular en un sujeto sano después del ejercicio mediante la reducción de la pérdida de glucógeno
45 muscular y/o la pérdida de proteínas

La referencia a la reducción de la pérdida de glucógeno o de proteínas en el presente documento también incluye la reducción de la tasa de reducción de la pérdida de glucógeno o de proteínas.

La referencia a la descomposición o pérdida de glucógeno o a la descomposición o pérdida de proteínas, tal como se emplea en el presente documento, se refiere al nivel del material en comparación con el nivel del material presente sin la administración del producto de la invención e incluye el caso en el que el glucógeno o las proteínas se descomponen y el producto de la invención promueve la producción de nuevo glucógeno o proteínas.
50

El éster de D-β-hidroxiacetato también es adecuado para su uso en la reducción de la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas durante el ejercicio.

El éster de D-β-hidroxi butirato es especialmente útil para mejorar la resistencia durante el ejercicio intenso y para mejorar la recuperación muscular después del ejercicio intenso, durante el cual puede producirse típicamente una pérdida de glucógeno y de proteínas.

5 Convenientemente, la degradación muscular aguda se reduce en un sujeto sano que realiza ejercicio, especialmente un ejercicio intenso. El término "sano", tal y como se emplea en este documento, se refiere a la salud general del sujeto que está sano y también al caso en el que el sujeto puede tener una condición que puede ser considerada como un impedimento para la buena salud o como insalubre si es diagnosticada por un médico, pero que no afecta materialmente a la capacidad del sujeto para el ejercicio.

10 La presente divulgación proporciona un procedimiento para reducir la degradación muscular durante el ejercicio que comprende la administración del éster de D-β-hidroxi butirato a un sujeto susceptible de sufrir degradación muscular para reducir la degradación muscular o para reducir la tasa de dicha degradación.

15 Tal como se utiliza en el presente documento, el término "cetona", "cuerpo cetónico" o "cuerpos cetónicos" significa un compuesto o especie que es una cetona o un precursor de cuerpos cetónicos, es decir, un compuesto o especie que es un precursor de una cetona y que puede convertirse o metabolizarse en una cetona. Un éster de "cuerpo cetónico" es un éster de dicho compuesto o especie.

20 El éster de D-β-hidroxi butirato reduce la descomposición del glucógeno (ahorro de glucógeno), disminuye la glucólisis y la acumulación de lactato, y disminuye la descomposición de las proteínas, lo que mejora la resistencia y, en particular, ayuda a la recuperación muscular después del ejercicio. El éster de D-β-hidroxi butirato también proporciona sustrato para la energía y, con la disminución de la degradación muscular, mejora la resistencia del sujeto durante el ejercicio. Ventajosamente, la ingestión de un éster de D-β-hidroxi butirato ayuda a la recuperación muscular después del ejercicio, por lo que los sujetos, en particular los atletas de élite y otros sujetos que se han sometido a un ejercicio intenso pueden recuperarse más rápida y completamente en un período de tiempo determinado.

25 La invención es especialmente útil para ayudar a la recuperación muscular de una persona sana, en particular de sujetos físicamente aptos, atletas de élite, personal militar y similares, por ejemplo, una persona cuya sangre cuando se analiza no muestra causas médicas que puedan influir en el rendimiento físico, por ejemplo, deficiencia de hierro, hemoglobina (Hb), electrolitos, recuento de glóbulos blancos y glucosa en ayunas. La invención es particularmente útil para ayudar a la recuperación en sujetos físicamente aptos, en particular en sujetos con altos niveles de aptitud física, por ejemplo, atletas y personal militar, particularmente atletas de élite y de alto rendimiento, donde la recuperación rápida aún puede ser mejorada.

30 Convenientemente, tras la ingestión del éster de D-β-hidroxi butirato, la pérdida de leucina, isoleucina y valina muscular en el sujeto se reduce en al menos un 10%, preferiblemente en al menos un 30% y más preferiblemente en al menos un 50% durante el ejercicio en comparación con el nivel de leucina, isoleucina y valina en el músculo sin la administración del éster de D-β-hidroxi butirato.

35 Convenientemente, tras la ingestión del éster de D-β-hidroxi butirato, la pérdida de glucógeno muscular o hepático en el sujeto se reduce en al menos un 10%, preferiblemente en al menos un 30% y más preferiblemente en al menos un 50% durante el ejercicio en comparación con el nivel de glucógeno sin la administración del éster de D-β-hidroxi butirato.

40 Convenientemente, tras la ingestión del éster de D-β-hidroxi butirato, la tasa de pérdida de glucógeno o de proteínas se reduce, preferiblemente en al menos un 1%, más preferiblemente en al menos un 5%, especialmente en al menos un 10% durante el ejercicio, en comparación con el nivel de glucógeno sin la administración del éster de D-β-hidroxi butirato.

En la invención puede emplearse un éster de D-β-hidroxi butirato. Preferentemente, el éster de D-β-hidroxi butirato es un éster de un alcohol polihídrico en el que el alcohol polihídrico no está totalmente esterificado.

45 Los ésteres según las reivindicaciones pueden derivarse de alcoholes y compuestos que contengan uno o más grupos hidroxilos libres. La fracción de D β-hidroxi butirato es preferentemente monomérica. Se prefieren especialmente los monoésteres y los ésteres en los que se han esterificado dos o más grupos hidroxilos, pero los grupos hidroxilos esterificados no están en una "relación beta", en la que los grupos hidroxilos no están unidos a átomos de carbono adyacentes.

50 Los alcoholes adecuados incluyen el butanodiol, especialmente el 1,3-butanodiol, la altrosa, la arabinosa, la dextrosa, la eritrosa, la fructosa, la galactosa, la glucosa, el glicerol, la gulosa, la idosa, la lactosa, la lixosa, la manosa, el ribitol, la ribosa, la ribulosa, la sacarosa, la talosa, la treosa, el xilitol y la xilosa. Preferentemente, el alcohol se selecciona entre el R-1,3-butanodiol y el glicerol.

55 Mientras que la administración parenteral de cuerpos cetónicos es conocida, por ejemplo de US-A-6,136,862, la administración oral del cuerpo cetónico o del éster del cuerpo cetónico es deseable para elevar rápidamente los

- niveles de cetonas circulantes, lo que no sería factible con la administración parenteral o la inyección debido al volumen de sal o ácido que podría ser necesario. Ventajosamente, la administración oral es más conveniente que la parenteral, el sujeto es más propenso a cumplir con los regímenes de dosificación, particularmente cuando se van a ingerir múltiples dosis de la cetona en intervalos relativamente cortos y cuando las dosis se consumen para proporcionar un mejor rendimiento deportivo y se puede evitar la posible aversión del sujeto a las agujas.
- Una vez ingerido, el cuerpo cetónico necesita pasar del intestino a la sangre para proporcionar un efecto fisiológico. La concentración de cetona en la sangre depende del nivel de captación de la cetona desde el intestino a la sangre. En el caso de las cetonas con una captación relativamente baja, se requerirá un mayor nivel de cetonas en el intestino. Esto, a su vez, requiere que se ingiera un mayor volumen de cetona para alcanzar una determinada concentración de cetona en sangre.
- Hemos encontrado que un monoéster de D-β-hidroxi butirato con R-1,3 butanodiol y/o un monoéster de D-β-hidroxi butirato con glicerol son ventajosamente menos aversivos al gusto que los ésteres oligoméricos y los ésteres de otros alcoholes. El sujeto puede ingerir más fácilmente estos ésteres y cumplir con un régimen de dosificación. Además, estos monoésteres proporcionan un nivel de captación sorprendentemente alto, lo que permite alcanzar altas concentraciones de hidroxi butirato en sangre tras el consumo de una dosis oral.
- En una realización especialmente preferente, el éster según las reivindicaciones es un monoéster de butano-1,3-diol con D-β-hidroxi butirato, por ejemplo 3-hidroxi butirato-D-β-hidroxi butirato y un monoéster y un diéster de glicerol con D-β-hidroxi butirato. El éster está preferentemente en forma enantioméricamente enriquecida.
- La presente divulgación se refiere además a un procedimiento para reducir la degradación muscular mediante la administración del éster según las reivindicaciones en un régimen de dosis en el que el régimen comprende administrar en al menos una dosis del éster para proporcionar un nivel circulante de hidroxi butirato y acetoacetato en la sangre de 0,1- o 1 a 20 mM, preferentemente 0,5- o 1 a 10 mM y óptimamente 1 a 8mM por ejemplo 2 a 5 mM donde al menos una dosis comprende el éster en una cantidad de al menos 0,1 g/kg de peso corporal del sujeto por dosis y preferentemente 0,3 a 1,5 g/kg por ejemplo al menos 0,3 a 0,75 g/kg de peso corporal.
- El éster de D-β-hidroxi butirato, preferiblemente (R)-3-hidroxi butil (R)-3-hidroxi butirato, es adecuado para su uso en el aumento de la concentración de D-β-hidroxi butirato en sangre hasta al menos 1 mM, preferiblemente hasta al menos 2 mM, especialmente 3 mM tras la administración oral a un sujeto del monoéster a 0,5 g/kg de peso corporal del sujeto. Tras la administración oral de una dosis de (R)-3-hidroxi butil (R)-3-hidroxi butirato de 1 g/kg de peso corporal del sujeto, la concentración de D-β-hidroxi butirato en sangre es convenientemente de al menos 4 mM, preferiblemente de al menos 5 mM, especialmente de al menos 6 mM. Tras la administración oral de una dosis de (R)-3-hidroxi butil (R)-3-hidroxi butirato de 1,5 g/kg de peso corporal del sujeto, la concentración de D-β-hidroxi butirato en sangre es convenientemente de al menos 7 mM, preferiblemente de al menos 8 mM, especialmente de al menos 9 mM.
- La administración oral puede llevarse a cabo en una dosis única o en dosis múltiples. Los niveles de cetona en el plasma sanguíneo pueden determinarse mediante kits de análisis disponibles en el mercado, por ejemplo, Ketostix, disponible en Bayer, Inc. Los niveles de acetona en el aliento también pueden determinarse con un kit comercial.
- El (R)-3-hidroxi butil (R)-3-hidroxi butirato es particularmente ventajoso, ya que permite lograr un gran aumento del Dβ-hidroxi butirato en sangre con la ingestión oral de un volumen de material mucho menor que con otras cetonas y otras formas de administración, por ejemplo, parenteral. En consecuencia, un sujeto que ingiere el material antes o durante el ejercicio físico es mucho más capaz de ingerir una cantidad adecuada de cetonas para proporcionar una respuesta fisiológicamente beneficiosa y ayudar a la recuperación muscular sin riesgo de malestar físico debido a un gran volumen o a un sabor amargo o aversivo. El alto nivel de concentración de D-β-hidroxi butirato en sangre también se mantiene durante un período más largo que después de otras cetonas. Para mantener los niveles elevados, se requiere una menor frecuencia de administración de nuevas dosis que para otras cetonas.
- La invención proporciona en otra realización una composición que comprende un éster de D-β-hidroxi butirato como se describe en relación con el primer aspecto de la invención .
- Convenientemente, la composición comprende agua y el éster reivindicado. Preferiblemente, la composición comprende además un aromatizante y, opcionalmente, una o varias proteínas, hidratos de carbono, azúcares, grasas, fibras, vitaminas y minerales.
- Los diferentes cuerpos cetónicos o ésteres de cuerpos cetónicos tienen diferentes niveles de captación. Hemos comprobado que los ésteres de cetona se digieren mejor que otras formas de cetona, por ejemplo, los tríolidos y los oligómeros. Para beneficiarse de la relativa facilidad de la digestión, el cuerpo cetónico es el éster cetónico reivindicado. Como ventaja práctica, para lograr un nivel determinado de cetona plasmática, la composición puede contener un nivel más bajo del éster de cetona reivindicado que si se utilizara otro cuerpo cetónico, lo que permite una ingestión fácil y cómoda antes o durante el ejercicio, de modo que se puede asegurar la disminución de la pérdida de glucógeno y proteínas musculares durante el ejercicio, y la mejora de la resistencia durante y la recuperación después del mismo, sin que la ingestión de un material resulte incómoda o desagradable para el

sujeto. Esto es especialmente beneficioso cuando el nivel de ejercicio es vigoroso o prolongado. Ventajosamente, esto permite que un sujeto ingiera dosis del cuerpo cetónico o del éster del cuerpo cetónico inmediatamente antes, durante o después del ejercicio para ayudar a la recuperación muscular.

5 Cuando el éster reivindicado se suministra como una composición en forma sólida, el nivel de éster en la composición comprende convenientemente al menos el 5% en peso del éster de hidroxibutirato, más preferiblemente al menos el 10% en peso y hasta el 95% en peso de la composición. Mientras que un nivel del 15 al 30% en peso de la composición seca puede ser adecuado, por ejemplo, cuando la composición es un polvo seco destinado a ser utilizado con un líquido para producir una composición líquida, una barra sólida o forma de producto comprende adecuadamente del 30 al 95%, especialmente del 50 al 95% en peso de la composición. Cuando la composición está en forma líquida, la composición comprende adecuadamente el éster reivindicado en un nivel de al menos el 1%, por ejemplo, del 3 al 40% en peso de la composición líquida, pero puede ser mayor, por ejemplo, hasta el 90% en peso de la composición, dependiendo de si la composición está destinada a ser tomada como una dosis única o en múltiples dosis más pequeñas para alcanzar el nivel deseado de cetonas en la sangre.

10 La composición en forma líquida comprende convenientemente la composición seca diluida con un líquido adecuado, por ejemplo, agua, zumo de frutas o leche, preferentemente en una proporción de 1:1 a 1:10, más preferentemente de 1:3 a 1:7 de composición seca a líquido. El nivel de cuerpo cetónico que es aceptable desde el punto de vista organoléptico variará según la composición precisa y su forma y el efecto de otros componentes de la composición.

20 La composición puede ser sólida, por ejemplo, un polvo, una tableta, una barra, un producto de confitería o un gránulo, y estar destinada a ser utilizada como una forma de dosis oral sólida. En otra realización, la composición sólida puede mezclarse antes de su uso con un líquido, preferentemente agua, un líquido a base de frutas o un producto lácteo, por ejemplo, leche y yogur, para proporcionar una bebida líquida al usuario. La leche, el zumo de frutas y el agua son especialmente preferidos como portadores de la composición. La composición puede suministrarse, según se desee, como un producto líquido en una forma lista para el consumo o como un concentrado o una pasta adecuada para diluirse en el momento del uso. El diluyente que se utiliza con la composición líquida es preferentemente leche, zumo de frutas o agua.

25 Cuando la composición está en forma sólida, la composición puede comprender además uno o más de los siguientes componentes:

- un diluyente, por ejemplo, lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o fécula de patata;
- 30 – un lubricante, por ejemplo, sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o de calcio y/o polietilenglicoles;
- un agente aglutinante, por ejemplo, almidones, gomas arábicas, gelatina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinilpirrolidona;
- un agente desintegrador como el almidón, el ácido algínico, los alginatos o el glicolato sódico de almidón;
- 35 – un agente efervescente;
- un colorante;
- un edulcorante;
- un agente humectante, por ejemplo, lecitina, polisorbatos, lauril sulfatos.

40 La composición también puede suministrarse en forma encapsulada, siempre que el material de encapsulación y la cantidad en que se utilice sean adecuados para el consumo humano seguro. Sin embargo, no se prefiere la encapsulación.

45 Una composición de la invención puede contener un triglicérido de cadena media (MCT) y opcionalmente sus ácidos grasos asociados. Los MCT comprenden ácidos grasos con una longitud de cadena de entre 5 y 12 átomos de carbono. Se sabe que una dieta rica en MCT da lugar a niveles elevados de cetonas en sangre. Los triglicéridos de cadena media adecuados están representados por la siguiente fórmula $\text{CH}_2\text{R}^1\text{-CHR}^2\text{-CH}_2\text{R}^3$ en la que R^1 , R^2 y R^3 son ácidos grasos que tienen de 5 a 12 átomos de carbono. Preferiblemente, se emplean MCT en los que R^1 , R^2 y R^3 son ácidos grasos que contienen un esqueleto de seis carbonos (tri-C6:0), ya que se ha informado de que los MCT tri-C6:0 se absorben muy rápidamente por la vía gastrointestinal.

50 Cuando se emplea un MCT, convenientemente la composición de la invención comprende i) un cuerpo cetónico, preferiblemente un monoéster cetónico, más preferiblemente un monoéster de D β-hidroxibutirato y ii) un MCT, preferiblemente un MCT tri-C6:0.

- La composición de la invención también puede comprender L-carnitina o un derivado de la L-carnitina. Algunos ejemplos de derivados de la L-carnitina son la decanoilcarnitina, la hexanoilcarnitina, la caproilcarnitina, lauroilcarnitina, la octanoilcarnitina, la estearoilcarnitina, la miristoilcarnitina, la acetil-L-carnitina, la O-acetil-L-carnitina y la palmitoil-L-carnitina. Cuando se emplea una carnitina, convenientemente la composición de la invención comprende i) un éster de D-β-hidroxibutirato, preferentemente el monoéster de D β-hidroxibutirato y ii) L-carnitina o un derivado de L-carnitina.
- En otra realización, la composición puede comprender i) un éster de D-β-hidroxibutirato, preferentemente el monoéster de D β-hidroxibutirato ii) un MCT, preferentemente un MCT tri-C6:0 o un MCT tri-C8:0 y iii) L-carnitina o un derivado de L-carnitina.
- 10 Cuando se emplea MCT y L-carnitina o su derivado, convenientemente el MCT se emulsiona con la carnitina. Preferiblemente, se combinan de 10 a 500 g de MCT emulsionados con 10 a 2000 mg de carnitina, por ejemplo, 50 g de MCT (95% triC8:0) emulsionados con 50 g de mono y di-glicéridos combinados con 500 mg de L-carnitina.
- El MCT puede estar presente en mayor cantidad que el éster, pero preferentemente el nivel del éster es mayor que el del MCT.
- 15 La composición puede estar en forma de sólido o en forma de composición líquida o de gel. Las formas sólidas adecuadas de la composición incluyen una barra o un polvo adecuado para mezclar con un líquido, por ejemplo, agua, leche o zumo de frutas en el punto de uso. Las formas adecuadas de composición líquida incluyen, por ejemplo, un jarabe, una emulsión y una suspensión. Convenientemente, en forma de jarabe, la composición puede contener además como portador, por ejemplo, sacarosa o sacarosa con glicerol y/o manitol y/o sorbitol. En forma de suspensión o emulsión, la composición puede contener como portador, por ejemplo, una goma natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o alcohol polivinílico.
- 20 La composición también puede ser un producto alimenticio, un suplemento alimenticio, un suplemento dietético, un alimento funcional o un nutraceutico o un componente del mismo.
- 25 Un producto alimenticio es un material comestible compuesto principalmente por uno o más de los macronutrientes proteínas, carbohidratos y grasas, que se utiliza en el cuerpo de un organismo para sostener el crecimiento, reparar la descomposición, ayudar a los procesos vitales o suministrar energía. Un producto alimenticio también puede contener uno o más micronutrientes, como vitaminas o minerales, o ingredientes dietéticos adicionales, como aromatizantes y colorantes. El término producto alimenticio, tal y como se utiliza aquí, también incluye una bebida.
- 30 Entre los ejemplos de productos alimentarios a los que se puede incorporar la composición como aditivo se encuentran las barritas, los cereales, los productos de confitería y las formulaciones probióticas, incluidos los yogures. Entre los ejemplos de bebidas se encuentran las bebidas sin alcohol, las bebidas alcohólicas, las bebidas energéticas, las mezclas de bebidas secas, las bebidas nutricionales y las infusiones o mezclas de hierbas para decocción en agua.
- 35 Un nutraceutico es un ingrediente alimentario, un suplemento alimentario o un producto alimentario que se considera que proporciona un beneficio médico o sanitario, incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades. En general, un nutraceutico está específicamente adaptado para conferir un beneficio particular a la salud del consumidor. Un nutraceutico suele incluir un micronutriente, como una vitamina, un mineral, una hierba o un fitoquímico, en un nivel superior al que se encontraría en un producto alimentario normal. Ese nivel suele seleccionarse para optimizar el beneficio previsto para la salud del nutraceutico cuando se toma como una sola porción o como parte de un régimen dietético o un curso de terapia nutricional.
- 40 Un alimento funcional es un alimento que se comercializa para proporcionar un beneficio para la salud más allá del suministro de nutrición pura al consumidor. Un alimento funcional suele incorporar un ingrediente, como un micronutriente, tal como se ha mencionado anteriormente, que confiere un beneficio médico o fisiológico específico distinto de un efecto nutricional. Un alimento funcional suele llevar una declaración de salud en el envase.
- 45 Se proporciona un kit que comprende un producto seleccionado entre un éster de D-β-hidroxibutirato y una composición según la invención y un monitor de cetonas y, opcionalmente, instrucciones sobre el nivel de producto a consumir por unidad de peso corporal para alcanzar un nivel predeterminado de cetona en plasma sanguíneo y un régimen de dosificación para mantener la cetona en plasma sanguíneo en el nivel predeterminado para reducir la degradación muscular. El usuario consume adecuadamente el producto y luego puede analizar periódicamente su nivel de cetonas en el aliento o en el plasma sanguíneo para determinar si es necesario seguir ingiriendo ésteres cetónicos para alcanzar o mantener el nivel deseado de cetonas en el plasma sanguíneo.
- 50 De forma habitual, el éster reivindicado o la composición que lo comprende se suministra con instrucciones de consumo. Convenientemente las instrucciones para consumir una o más dosis de un éster de cuerpo cetónico o composición según la invención por día o consumir una dosis antes del ejercicio, preferiblemente al menos 10 minutos, más preferiblemente a 30 minutos y como máximo 1 hora antes del ejercicio.
- 55

5 Para el ejercicio prolongado, por ejemplo, más de 20 minutos, se pueden consumir periódicamente 2 o más dosis, más preferiblemente de 2 a 8 dosis, por ejemplo 3 o 6 dosis, para elevar o mantener los niveles elevados de cetonas en el plasma sanguíneo. Es conveniente que las dosis se consuman a intervalos regulares, ya que así se mantiene un nivel más homogéneo del contenido de cetonas en la sangre, aunque el usuario puede consumir una dosis para mantener o mejorar el rendimiento energético y así "cebar" la sangre con cetonas.

La invención se describe con referencia a los siguientes ejemplos

Ejemplo 1

10 Comparación del éster de cetona con las bebidas nutricionales a base de hidratos de carbono y de grasas Metabolitos plasmáticos y el metabolismo del músculo esquelético en atletas de alto rendimiento (n = 10) se midieron después de suministrar carbohidratos, grasas de cadena larga o bebidas de cetona antes y durante el ejercicio de ciclismo.

Procedimientos

15 Se realizaron ejercicios de ciclismo para ilustrar los beneficios de la invención en forma de bebida, frente a las bebidas de control, en relación con la resistencia muscular durante el ejercicio y la recuperación muscular después del mismo.

20 *Los deportistas:* Se reclutaron diez atletas masculinos de alto rendimiento de deportes de resistencia para participar en este estudio. Todos tenían experiencia en competiciones internacionales; varios habían representado a Gran Bretaña en los campeonatos mundiales y estaban sanos. Se les pidió que no hicieran ejercicio intenso en las 48 horas anteriores a las pruebas, que se abstuvieran de tomar alcohol y cafeína durante 24 horas y que consumieran una comida idéntica antes de cada visita. Los atletas se presentaron tras un ayuno nocturno y las pruebas se realizaron a la misma hora del día (a partir de las 08:00 h) para minimizar el impacto de los patrones diurnos en el rendimiento. Los atletas repitieron sus rutinas preparatorias de forma idéntica antes de todas las pruebas. Los atletas fueron sometidos a pruebas dentro del mismo macrociclo de entrenamiento y a la misma hora dentro de una semana de entrenamiento.

25 *La prueba de ciclismo:* Todos los participantes realizaron una prueba de ejercicio incremental (25W/3 min) hasta el agotamiento en la que la potencia se incrementaba cada 3 minutos en un ergómetro de bicicleta con freno electrónico (Monark 928e, Suecia) para la determinación del VO_{2Max} y W_{Max} al menos 1 semana antes de la primera prueba. Se utilizó el mismo ergómetro para las pruebas de ejercicio posteriores, que fueron completadas por todos los atletas. Cada atleta completó tres pruebas experimentales que consistían en 60 minutos de ciclismo de carga constante al 75% de la W_{Max} realizado de forma aleatoria, a ciegas y cruzada, con 1 semana entre las pruebas (Figura 1A).

30 *Preparación de bebidas:* Las bebidas eran isocalóricas en cuanto a energía (valor calórico medio de 257 ± 15 Kcal) y se emparejaron en cuanto a sabor utilizando edulcorantes (Neotame™, NutraSweet, USA) o aditivo amargo (Symrise, número de producto 648352, Reino Unido) para garantizar el cegamiento. Las calorías de los sustratos se ajustaron al peso corporal y se dosificaron para garantizar un aporte mínimo de carbohidratos de 1,2 g/min de ejercicio al beber la bebida de carbohidratos. Las bebidas se prepararon con agua para deportistas disponible en el mercado (Glaceau, Reino Unido), y se ajustaron a la tonicidad (soluciones al 13% para todos los brazos). Como se muestra en la Figura 1B, todas las bebidas contenían un mínimo del 96% de su energía a partir de un único sustrato, como hidratos de carbono (maltodextrina, proporción de fructosa 5:1, Gu Gels, Berkeley, USA), triglicéridos de cadena larga (Calogen™, Zoetermeer, Países Bajos), o (R)-3-hidroxibutil (R)-3-hidroxibutirato, un éster de cetona según la invención. Para las pruebas se administró la bebida a razón de 3,5 ml/kg de peso corporal que contenía 573 mg/kg de peso corporal del sustrato (éster cetónico, grasa o carbohidrato).

35 Los sujetos ingirieron una dosis del 75% de la bebida que contenía carbohidratos, grasas emulsionadas o ésteres de cetonas 15 minutos antes del inicio del ejercicio, en un intervalo de tiempo de 5 minutos. A los 45 minutos, se detuvo a los atletas durante 1 minuto y se les pidió que ingirieran el segundo volumen, más pequeño (dosis del 25%), de la bebida como "complemento" para los 15 minutos restantes de ejercicio. Durante el ensayo, los sujetos tuvieron agua *ad libitum*.

40 *Asignación de bebidas:* Las bebidas según la invención y las bebidas de control se prepararon como se indica a continuación. La asignación de las bebidas a los atletas participantes fue oculta y los ensayos fueron aleatorios, a ciegas, cruzados y controlados con placebo. Se utilizó un procedimiento de doble aleatorización; el orden de asignación de las bebidas se determinó mediante un generador de números aleatorios sólo cuando el participante acudía a cada ensayo, y el orden de participación se determinó según la disponibilidad del participante. Las bebidas de la invención y de control eran indistinguibles en el sentido de que tenían el mismo sabor, apariencia y volumen para cada atleta y fueron asignadas al azar. Al ser interrogados, los atletas no sabían qué bebida habían consumido.

55 *Parámetros medidos:* Se realizaron diversas mediciones a los atletas mediante análisis de sangre y biopsias musculares, de las que se extrajeron y analizaron los metabolitos mediante los siguientes procedimientos:

Muestras de sangre: Durante el ejercicio, se obtuvieron muestras de sangre (2-3 ml) mediante un catéter venoso de 22 G insertado percutáneamente en una vena antecubital. Se utilizó una llave de tres vías para poder repetir el muestreo. Las muestras se almacenaron inmediatamente en hielo, se centrifugaron (3600 rpm durante 9 minutos) y posteriormente se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis. La glucosa, los ácidos grasos libres, los triglicéridos, el D-β-hidroxibutirato y el lactato se analizaron con un analizador comercial automatizado de sobremesa (ABX Pentra, Montpellier, Francia). Los ensayos de glicerol e insulina se realizaron con kits Elisa (Mercodia, Uppsala, Suecia).

Biopsias musculares: El tejido muscular se recogió mediante biopsias percutáneas con aguja del tercio inferior del músculo Vastus Lateralis con una pistola de biopsia (Bard Monopty™, Bard Biopsy Systems, USA). Se obtuvieron muestras de nuevas incisiones antes e inmediatamente después de cada ejercicio. Los tejidos se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su posterior análisis.

Extracción de metabolitos del músculo esquelético: Los metabolitos se extrajeron dos veces de aproximadamente 100 mg de tejido. Las fracciones acuosas y orgánicas se separaron y se dividieron en dos volúmenes idénticos para poder realizar múltiples análisis.

Análisis ¹H-NMR de los metabolitos acuosos: La mitad de la fracción acuosa (-25 mg de peso húmedo del tejido) se secó bajo nitrógeno y se resuspendió en 600 µl de D₂O que contenía 0,09% p/v de NaCl (Sigma), 0,01% p/v de NaN₃ (Sigma) y 0,25 mM de deuterato de sodio-3-trimetilsililpropionato (NaTMSP-2,2,3,3-D₄, Cambridge Isotope Laboratories, Inc.) como referencia de desplazamiento químico. Las muestras se analizaron en un espectrómetro de RMN Bruker con interfaz a un imán superconductor de 11,8 Tesla a 310K utilizando una secuencia de pulsos ¹H-NOESY 1D con 128 barridos. Los datos se integraron utilizando tamaños integrales fijos de 0,02 ppm dentro de 1D Spec Manager (v12, Advanced Chemistry Development, Inc.).

Estadísticas: Los resultados se expresan en forma de media ± SEM y la significación se tomó como p < 0,05. Aunque un sujeto se negó a que se le hicieran biopsias de músculo esquelético, se analizaron todos los datos clínicos y de laboratorio de todos los sujetos (sin deserción ni exclusiones). El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS (V17, Chicago, USA). Los metabolitos sanguíneos se compararon entre los brazos utilizando un ANOVA de una vía con corrección post hoc de Tukey.

Resultados

La ingestión de una bebida (3,5 ml/kg de peso corporal) que contenía 573 mg/kg de éster de cetona produjo un rápido aumento del D-β-hidroxibutirato circulante desde los niveles de ayuno nocturno de 0,13 ± 0,03 mM hasta 3,5 ± 0,3 mM durante 10 min de descanso, donde se mantuvieron a lo largo de 60 min de ejercicio, como se muestra en la Figura 1C. Cuando los atletas permanecieron en reposo, las concentraciones plasmáticas de D-β-hidroxibutirato aumentaron hasta > 5 mM. Las concentraciones de D-β-hidroxibutirato después de la bebida cetónica fueron más altas que las concentraciones observadas después de las bebidas que contenían carbohidratos o grasas de cadena larga.

Las concentraciones de lactato fueron las mismas en la línea de base para todas las bebidas (Figura 1D). Sin embargo, tras el inicio del ejercicio, las concentraciones de lactato en sangre fueron significativamente más bajas después de la bebida de cetonas que después de las bebidas de carbohidratos o grasas, lo que dio lugar a concentraciones medias de lactato ~2-3 mM (~50%) más bajas que con la bebida de carbohidratos durante todo el ciclo y más bajas que con la bebida de grasas a los 30 y 45 min.

Las concentraciones de ácidos grasos libres (AGL) fueron significativamente más elevadas en la línea de base después de la ingesta alta en grasas y baja en carbohidratos (Fig. 1E) y se mantuvieron elevadas durante todo el ejercicio en comparación con las bebidas de carbohidratos o cetonas, alcanzando ~0,8 mM al final del ejercicio. Las concentraciones de AGL fueron las mismas en la línea de base y disminuyeron después de tomar carbohidratos y cetonas. La cetosis suprimió significativamente el aumento de los AGL observado tras 25 minutos de ejercicio en comparación con las bebidas de grasa y, en menor medida, de carbohidratos. El ejercicio provocó aumentos significativos de glicerol en plasma después de las bebidas de carbohidratos y de grasas (Fig. 1F), pero no después de la bebida de cetonas.

Las concentraciones de glucosa en sangre fueron las mismas para todos los atletas en la línea de base, pero aumentaron significativamente dentro de los 10 minutos de la bebida de carbohidratos (Fig. 1G). La glucosa en sangre descendió durante los primeros 10 minutos de ejercicio después de las bebidas de carbohidratos o cetonas, y fue significativamente más baja después de la bebida de cetonas que después de las bebidas de grasas o carbohidratos a los 5 minutos del ejercicio, permaneciendo más baja que la bebida de grasas durante gran parte del ciclo.

Las concentraciones de insulina en plasma fueron significativamente elevadas después de la bebida de carbohidratos en comparación con las bebidas de grasa y cetonas (Fig. 1H). Las concentraciones de insulina alcanzaron un pico 10 minutos después de la bebida de carbohidratos, y descendieron a los niveles de referencia

tras 25 minutos de ejercicio. No hubo diferencias significativas en la insulina después de las bebidas de grasa y cetona.

Después de la bebida de cetona, los niveles más bajos de lactato, AGL y glicerol en el plasma durante el ejercicio sugieren que el ejercicio podría haber sido continuado por más tiempo, en otras palabras, la cetosis mejoró la resistencia.

La dieta alteró los metabolitos del músculo esquelético durante el ejercicio

El D-β-hidroxibutirato y otros metabolitos se midieron en biopsias de músculo esquelético antes y después del ejercicio de ciclismo (Figura 2). En reposo, 10 min después de la bebida cetónica, las concentraciones intramusculares de D-β-hidroxibutirato fueron ~3 veces mayores que tras la ingesta de bebidas de carbohidratos o grasas y se mantuvieron elevadas al final del ejercicio, duplicando las concentraciones tras las bebidas de grasas o carbohidratos. Así, el aumento del D-β-hidroxibutirato plasmático se reflejó en el aumento del D-β-hidroxibutirato intramuscular. La glucosa intramuscular aumentó antes del ejercicio después de la bebida de carbohidratos en comparación con las bebidas de grasas y cetonas, y se elevó significativamente después de la bebida de cetonas más el ejercicio. Las concentraciones musculares previas al ejercicio de los intermediarios glucolíticos, gliceraldehído-3-fosfato, 2&3-fosfoglicerato y piruvato, fueron significativamente menores después de la bebida de cetona en comparación con las bebidas de carbohidratos y grasas. La fructosa-1,6-bisfosfato, el fosfato de dihidroxiacetona (DHAP) y el 1,3-bisfosfoglicerato eran iguales en reposo en todos los sujetos.

Después del ejercicio, y con la excepción de la DHAP, las concentraciones de todos los intermediarios glucolíticos musculares fueron significativamente menores después de la bebida de cetona en comparación con las bebidas de carbohidratos y grasas, lo que sugiere que la cetosis suprimió la glucólisis del músculo esquelético y explica la concentración de lactato en sangre 2-3 mM más baja descrita anteriormente. Los intermediarios glucolíticos fueron los mismos después de las bebidas de grasa y de carbohidratos.

Los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA), leucina, isoleucina y valina, se movilizan durante el ejercicio a medida que aumentan las demandas energéticas y anapleuróticas del músculo. En reposo, los BCAA del músculo esquelético fueron significativamente mayores después de la bebida de grasa que después de las bebidas de carbohidratos o cetonas, como se muestra en la Figura 3A. Durante el ejercicio, la leucina, la isoleucina y la valina aumentaron debido al catabolismo muscular, pero fueron un 50% más bajas después de la bebida de cetonas que de las bebidas de carbohidratos o grasas, como se muestra en los datos posteriores al ejercicio en la Figura 3A. La demanda de sustratos anapleuróticos inducida por el ejercicio se reflejó en la fuerte relación positiva entre la leucina, la isoleucina y la valina musculares y el piruvato muscular, como se muestra en la figura 3B. La figura 3C muestra que cuanto más altos son los niveles intracelulares de beta-hidroxibutirato (βHB), menor es la descomposición del músculo para producir glucosa y menor es el flujo a través de la glucólisis (y el piruvato), el βHB proporciona una fuente de energía. El lactato plasmático se correlacionó positivamente con el piruvato muscular (Figura 3D), apoyando la conclusión de que el menor lactato durante la cetosis se debió a la disminución de la glucólisis muscular. La figura 3E muestra que al aumentar el D-β-hidroxibutirato intramuscular durante el ejercicio se produce una reducción de la demanda glucolítica, tal y como muestra la disminución de la leucina, la isoleucina y la valina, el piruvato y la suma de los intermediarios glucolíticos (figura 3F). Los niveles más bajos de leucina, isoleucina y valina indican una disminución de la utilización de la glucosa durante el ejercicio.

Conclusiones

La administración de un éster dietético de cetonas para elevar las cetonas circulantes, según la invención, alteró significativamente los sustratos plasmáticos en los atletas y redujo el glucógeno muscular y la degradación de las proteínas, y mejoró la resistencia durante y la recuperación después del ejercicio.

Los resultados sugieren que el metabolismo de las cetonas puede tener una preferencia jerárquica sobre el metabolismo de los carbohidratos y las grasas, incluso durante condiciones que tradicionalmente favorecen mucho la oxidación de los carbohidratos, como el ejercicio intenso. Los niveles de D-β-hidroxibutirato intramuscular fueron ~3 veces más altos después de la bebida de cetona, que disminuyó los intermediarios glucolíticos, mientras que mantuvo los metabolitos del ciclo TCA durante el mismo ejercicio, lo que sugiere que las cetonas se oxidaron preferentemente como una alternativa al piruvato.

El ejercicio proporciona un modelo de estrés fisiológico y tiene importantes paralelismos con las enfermedades en las que las demandas energéticas son elevadas y pueden producirse cambios en la selección de sustratos

Ejemplo 3

Cetosis reducida

Las ratas Wistar macho adultas (n = 65) fueron alimentadas con comida estándar de laboratorio *ad libitum* antes de comenzar las dietas experimentales. Las ratas fueron alimentadas con una de las tres dietas isocalóricas: (a) una dieta "occidental" rica en grasas en la que el 30% de las kcal procedían del aceite de palma añadido, (b) una dieta

rica en carbohidratos, en la que el 30% de las kcal procedían del almidón de maíz añadido, o (c) una dieta cetogénica, en la que el 30% de las kcal procedían del monoéster de D β hidroxibutirato-R 1,3 butanodiol monoéster, un éster cetónico según la invención, como se muestra en la figura 4A. Cada dieta contenía 1,76 kcal/g y las ratas fueron alimentadas por parejas durante 66 días.

- 5 Las ratas con la dieta de cetonas tenían el mismo peso corporal, pero el peso de la grasa epididimal era un 35% menor (Fig. 4B) que en las alimentadas con la dieta occidental. La notable disminución de la grasa, y por tanto del músculo, se debió a la reducción de la degradación muscular durante los 66 días.

- 10 La cetosis nutricional eleva ventajosamente el D- β -hidroxibutirato circulante sin los efectos negativos de una dieta cetogénica alta en grasas o de infusiones de ácido cetónico/sal, y sería beneficiosa para la resistencia durante el ejercicio y la recuperación después del mismo en sujetos sanos.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un éster de D-β-hidroxi butirato para mejorar la resistencia de un sujeto sano durante el ejercicio reduciendo la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas durante el ejercicio.
- 5 2. Uso de un éster de D-β-hidroxi butirato para ayudar a la recuperación muscular en un sujeto sano después del ejercicio, reduciendo la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas.
3. Uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que el éster de D-β-hidroxi butirato comprende un éster de un alcohol polihídrico en el que el alcohol polihídrico no está totalmente esterificado.
4. Uso según la reivindicación 3, en el que el alcohol polihídrico se selecciona entre R 1,3 butanediol o glicerol.
- 10 5. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el éster de D-β-hidroxi butirato comprende un monoéster.
6. Uso según la reivindicación 5, en el que el monoéster comprende un monoéster de D-β-hidroxi butirato con R-1,3-butanediol y/o un monoéster de D-β-hidroxi butirato con glicerol.
- 15 7. Uso de una composición que comprende i) un éster de D-β-hidroxi butirato y ii) un triglicérido de cadena media para mejorar la resistencia de un sujeto sano durante el ejercicio reduciendo la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas durante el ejercicio.
8. Uso de una composición que comprende i) un éster de D-β-hidroxi butirato y ii) un triglicérido de cadena media para ayudar a la recuperación muscular en un sujeto sano después del ejercicio, reduciendo la pérdida de glucógeno muscular y/o la pérdida de proteínas.
- 20 9. Uso según la reivindicación 7 o la reivindicación 8, en el que el triglicérido de cadena media comprende un ácido graso con una longitud de cadena de 5 a 12 átomos de carbono.
10. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que el triglicérido de cadena media comprende un compuesto de fórmula $CH_2R^1-CHR^2-CH_2R^3$ en la que R^1 , R^2 y R^3 son ácidos grasos que tienen 6 átomos de carbono.

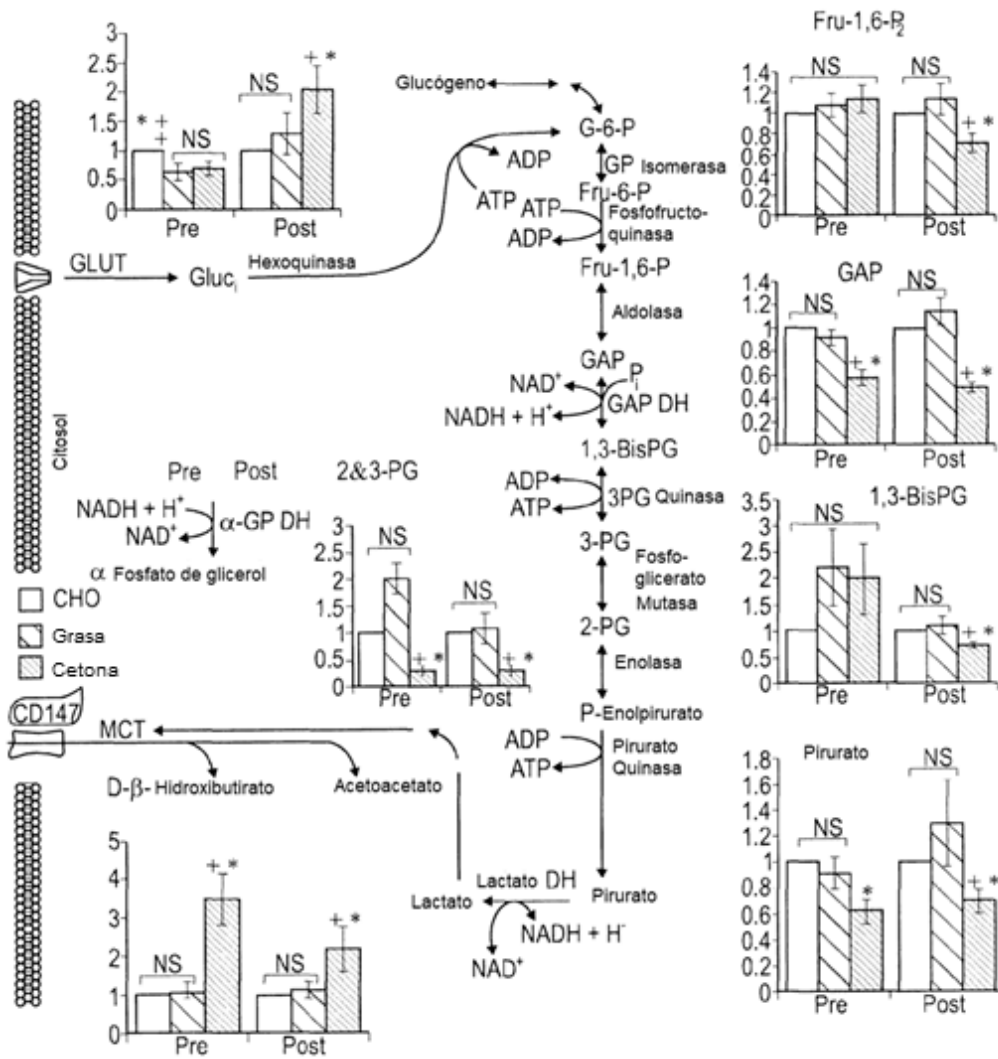


Fig. 2

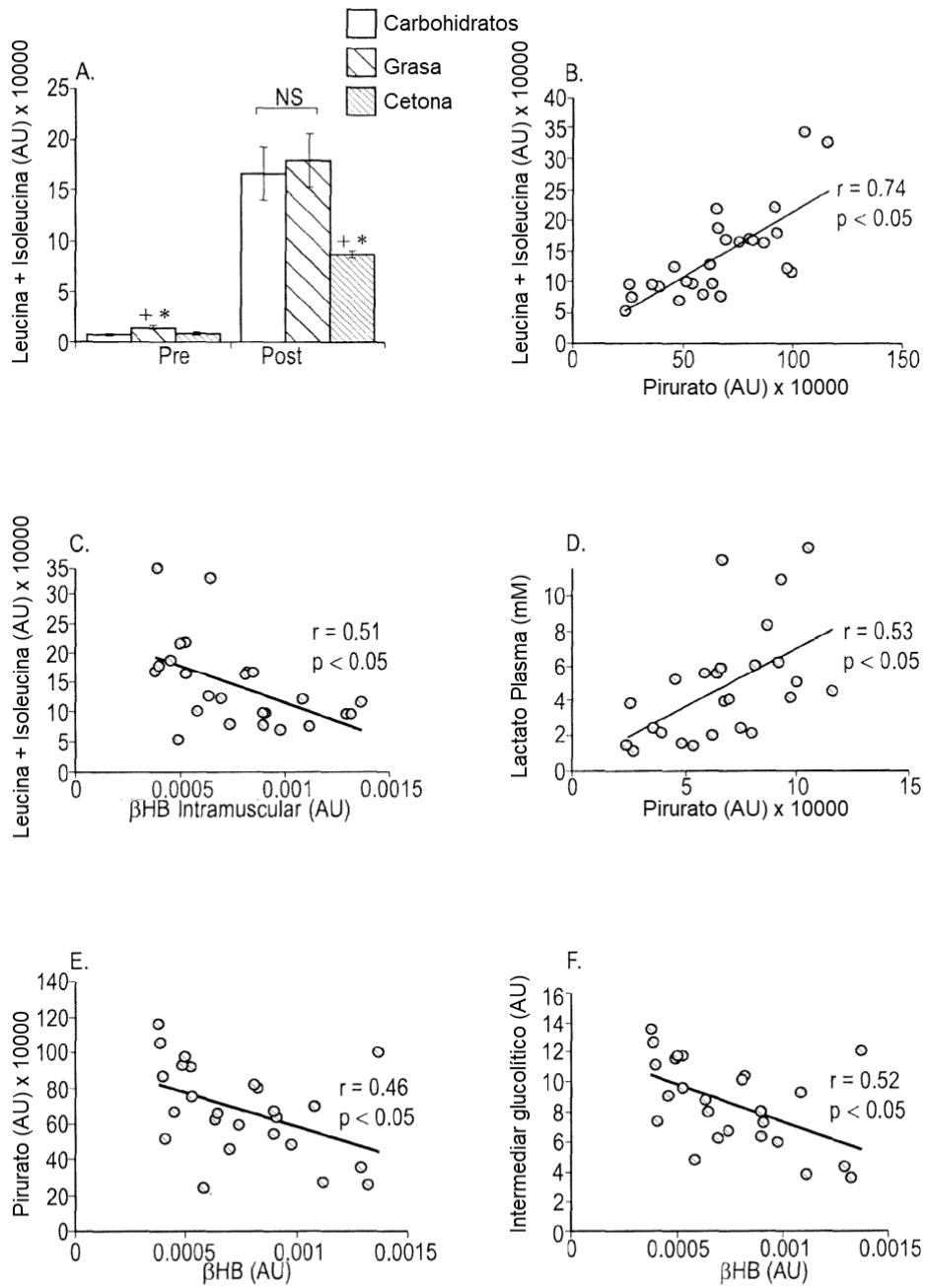


Fig. 3

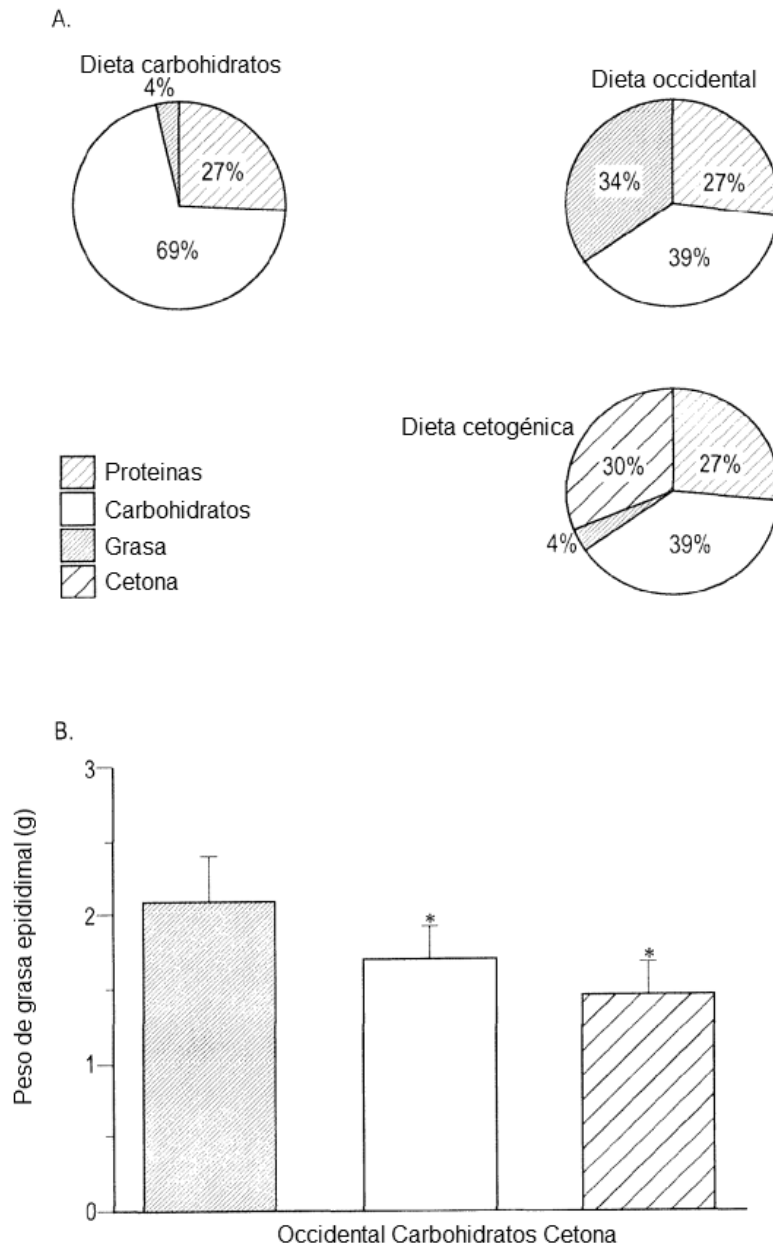


Fig. 4