



**CONFEDERAZIONE SVIZZERA**  
ISTITUTO FEDERALE DELLA PROPRIETÀ INTELLETTUALE

(11) **CH** **698 459 B1**

(51) Int. Cl.: **A61K 38/40** (2006.01)  
**A61K 33/24** (2006.01)  
**A61K 31/28** (2006.01)  
**A61P 9/00** (2006.01)

**Brevetto d'invenzione rilasciato per la Svizzera ed il Liechtenstein**

Trattato sui brevetti, del 22 dicembre 1978, fra la Svizzera ed il Liechtenstein

(12) **FASCICOLO DEL BREVETTO**

(21) Numero della domanda:	00564/06	(73) Titolare/Titolari:	Maxluck Biotechnology Corp., 10F., No. 75-1, Songjiang Rd. Jhongshan District Taipei City 104 (TW)
(22) Data di deposito:	05.04.2006	(72) Inventore/Inventori:	Frank Chiahung Mao, Situn District, Taichung City 407 (TW) Wen-Ying Chen, Taichung County 434 (TW) Yi-Chung Chiang, Shihlin District, Taipei City (TW) Cheng Chiang, Shihlin District, Taipei City (TW)
(30) Priorità:	05.07.2005 TW 094122677	(74) Mandatario:	JACOBACCI & PARTNERS S.p.A., 2, Avenue de la Gare des Eaux-Vives 1207 Genève (CH)
(24) Brevetto rilasciato:	14.08.2009		
(45) Fascicolo del brevetto pubblicato:	14.08.2009		

(54) **Composizione per prevenire e trattare disturbi cardiovascolari.**

(57) È descritta una composizione per prevenire e trattare disturbi cardiovascolari. La composizione include la lattoferrina ed un composto di cromo trivalente. Il composto di cromo trivalente della presente invenzione è scelto da un gruppo consistente di cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato aminoacidico, GTF cromo, cromo lievito, estratto di cromo lievito, sali inorganici di cromo trivalente, sali organici di cromo trivalente, e loro combinazioni.

## Descrizione

[0001] La presente invenzione si riferisce ad una composizione per prevenire e trattare disturbi cardiovascolari e, più in particolare, ad un latticino con cromo trivalente che può prevenire e trattare una malattia cardiovascolare di un ricevente e al procedimento per la sua produzione.

[0002] A causa dello sviluppo dell'economia, del cambio di stile di vita, e dell'abbondanza di cibi ricchi, si osserva gradualmente obesità in tutti i gruppi di età degli esseri umani dell'epoca moderna, dai bambini, ai giovani, alle persone anziane. La popolazione di queste persone obese continua a crescere e, di conseguenza, sempre più persone soffrono di malesseri derivanti dall'obesità, quali ipertensione, malattia cardiaca, e iperlipidemia. Pertanto, è veramente importante per gli esseri umani dell'epoca moderna studiare come prevenire e trattare le malattie cardiovascolari.

[0003] Normalmente, il cromo trivalente assorbito dai cibi può essere trasferito nel fattore di tolleranza al glucosio (GTF) e poi distribuito nei tessuti di corpi umani. GTF nei tessuti assiste i lipidi e gli idrocarburi del sangue nell'andare incontro ad un metabolismo normale tramite l'effetto sinergico con l'insulina.

[0004] La ricerca rivela che la concentrazione del cromo nel siero diminuisce con l'avanzare dell'età. Dalla ricerca clinica del 1997, Davies ha verificato che la concentrazione del cromo nel siero diminuisce da 0,5 ng/ml all'età infantile a 0,3 ng/ml all'età di 70 anni. L'obesità è una causa che fa defluire il cromo da un corpo umano. Inoltre, la deficienza di cromo darà luogo a problemi nel metabolismo delle cellule del miocardio, cosa che causa conseguentemente infarto del miocardio ed altri sintomi clinici.

[0005] Il cromo può essere assorbito nelle forme di sale inorganico o sale organico dal cibo quotidiano. Tuttavia, la percentuale di assorbimento del cromo inorganico per il corpo umano è molto bassa, e varia solo da 0,4% a 3%. La causa di base risiede nel fatto che il cromo inorganico tende ad andare incontro a reazione di dazione nel tratto digerente. La reazione di olazione può produrre composti complessi voluminosi che impediscono l'assorbimento nel tratto intestinale.

[0006] Il cromo organico adeguato include cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo GTF (Fattore di Tolleranza al Glucosio), e cromo estratto di lievito.

[0007] L'integrazione con cromo organico aiuta a curare la malattia cardiovascolare causata dalla deficienza di cromo. Per gli adulti in generale, il cromo combinato con altri tipi di vitamine e sostanze minerali può essere considerato come un integratore nutritivo personale.

[0008] Il brevetto U.S. n. 4 923 855 ha descritto un materiale sintetico di GTF cromo ed un procedimento per esso, in cui il cromo trivalente è combinato con acido nicotinico per ottenere un nuovo prodotto di cromo avente un fattore di tolleranza al glucosio. Nel 2002, Cefalu et al. hanno annunciato che il cromo picolinato poteva ridurre i lipidi nel sangue di un topo obeso.

[0009] La presente invenzione fornisce una composizione per prevenire e trattare i disturbi cardiovascolari. Più in particolare, la presente invenzione fornisce una composizione di composto di cromo trivalente e lattoferrina che può prevenire e trattare i disturbi cardiovascolari.

[0010] La composizione per prevenire e trattare i disturbi cardiovascolari della presente invenzione include principalmente (a) una lattoferrina e (b) un composto di cromo trivalente.

[0011] La lattoferrina della presente invenzione non è limitata, e può derivare da lattoferrina di latte di mucca, lattoferrina di latte di capra, latte di mucca non purificata, e latte di capra non purificata. Poiché la lattoferrina è principalmente presente nel siero del latte, la lattoferrina della presente invenzione può anche essere sostituita con prodotti proteici del siero o con prodotti del latte.

[0012] Neanche il composto di cromo trivalente della presente invenzione è limitato. Preferibilmente, esso può essere scelto da un gruppo consistente di cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato aminoacidico, GTF cromo, cromo lievito, estratto di cromo lievito, sali inorganici di cromo trivalente, sali organici di cromo trivalente, e loro combinazioni.

[0013] Il sale inorganico di cromo trivalente include, per esempio, cromo (III) cloruro e cromo (III) solfato.

[0014] Il sale organico di cromo trivalente include, per esempio, cromo (III) acetato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato ad aminoacido, cromo estratto di lievito, e cromo di lievito.

[0015] Più preferibilmente, il composto di cromo trivalente è cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato aminoacidico, GTF cromo, cromo lievito, o estratto di cromo lievito.

[0016] Generalmente parlando, il rapporto molare tra lattoferrina ed il composto di cromo trivalente della presente invenzione non è particolarmente limitato. Preferibilmente, il rapporto molare tra lattoferrina ed il composto di cromo trivalente varia tra 1:200 e 10:1. Più preferibilmente, il rapporto molare tra lattoferrina ed il composto di cromo trivalente varia tra 1:20 e 1:1.

[0017] La composizione della presente invenzione può servire come additivo di un latticino. Il latticino può essere il latte fresco di mammiferi, latte a lunga conservazione, latte concentrato, formaggio, o latte in polvere.

[0018] La composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione può essere assorbita ed utilizzata efficacemente dal corpo umano. L'assunzione del latticino avente la composizione della presente invenzione non solo può ripristinare efficientemente il cromo organico, ma può anche controllare il livello di lipidi e di fattori di infiammazione nel sangue di un paziente che soffre di malattia cardiovascolare.

[0019] La composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione viene preparata miscelando il composto di cromo trivalente con la lattoferrina, e può aumentare il metabolismo normale di grassi, carboidrati, e proteine. La lattoferrina è una glicoproteina che è in grado di combinarsi con ioni metallici. Ciascuna molecola di lattoferrina può combinarsi con due ioni di cromo trivalente.

[0020] La composizione della presente invenzione può essere utilizzata per preparare una medicina. Inoltre, essa può essere aggiunta ad un latticino, ed in tal modo formare un latticino contenente un composto di cromo trivalente e lattoferrina, cioè formare un alimento o nutrimento.

[0021] La composizione della presente invenzione può essere assunta da un paziente che soffre di malattia cardiovascolare poiché la composizione può integrare efficientemente il cromo trivalente e aumentare il metabolismo normale di grassi, carboidrati, e proteine. Inoltre, può essere ridotto il livello di lipidi e fattori di infiammazione nel sangue per dare conforto a chi soffre di malattia cardiovascolare.

[0022] La composizione della presente invenzione può essere preparata miscelando la polvere di lattoferrina con la polvere di un composto di cromo trivalente. Inoltre, nella miscela di lattoferrina e del composto di cromo trivalente può anche essere aggiunta dell'acqua per preparare una soluzione miscelata. La soluzione miscelata può essere adeguatamente riscaldata in modo che la miscelazione possa essere effettuata adeguatamente. La temperatura di riscaldamento varia tra 37°C e 95°C, e preferibilmente varia tra 50°C e 80°C. La soluzione ben miscelata viene poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

[0023] Il materiale grezzo del composto di cromo trivalente utilizzato nella presente invenzione può essere la forma di sale inorganico o di sale organico, quali cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, e cromo nicotinato.

[0024] La lattoferrina potrebbe derivare dalla soluzione o dalla polvere essiccata di lattoferrina. Poiché la lattoferrina è principalmente presente nel siero del latte, la presente invenzione può anche utilizzare un prodotto proteico del siero non purificato o un latticino per sostituire la lattoferrina.

[0025] La seguente descrizione dettagliata è fornita a titolo di esempio e non intende limitare l'invenzione unicamente alle forme di attuazione qui descritte.

#### **Esempio 1**

[0026] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere con 0,5 g di cromo (III) cloruro esaidrato per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

#### **Esempio 2**

[0027] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere e 0,5 g di cromo (III) cloruro esaidrato con 1 litro di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene ben miscelata e poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

#### **Esempio 3**

[0028] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere e 0,5 g di cromo (III) cloruro esaidrato con 1 litro di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene ben miscelata, essiccata a spray, e poi miscelata con 10 kg di latte in polvere per formare il latticino contenente cromo trivalente e lattoferrina.

#### **Esempio 4**

[0029] Miscelare 100 g di proteine del siero e 0,5 g di cromo (III) cloruro esaidrato con 3 litri di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene ben miscelata e poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

#### **Esempio 5**

[0030] Viene prima ripetuta la procedura dell'Esempio 4, e poi il prodotto viene miscelato con 10 kg di latte in polvere per formare il latticino contenente cromo trivalente e lattoferrina.

#### **Esempio 6**

[0031] Viene ripetuta la procedura dell'Esempio 4, eccetto per il fatto che la soluzione miscelata viene aggiunta a 90 kg di latte fresco per formare il latticino contenente cromo trivalente e lattoferrina.

**Esempio 7**

[0032] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere con 0,3 g di cromo (III) cloruro per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

**Esempio 8**

[0033] Miscelare 6 g di lattoferrina in polvere con 0,5 g di cromo acetato per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

**Esempio 9**

[0034] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere e 0,35 g di cromo solfato con 1 litro di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene ben miscelata e poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

**Esempio 10**

[0035] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere e 0,8 g di cromo picolinato con 1 litro di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene riscaldata e miscelata, e poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

**Esempio 11**

[0036] Miscelare 5 g di lattoferrina in polvere e 0,8 g di cromo nicotinato con 1 litro di acqua per formare una soluzione. La soluzione viene riscaldata e miscelata, e poi essiccata a spray per formare la composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione.

**Esempio di test 1**

[0037] Il latticino ottenuto dall'Esempio 5 viene miscelato in un alimento per topi («Modified LabDiet w/35,5% Lard», PMI® Richmond, Indiana, USA). A 13 settimane di età, dopo un digiuno notturno, vengono condotti test di tolleranza al glucosio (GTT). A seconda dei risultati di GTT, i topi KK/H1J vengono suddivisi casualmente in due gruppi. Al gruppo sperimentale viene somministrato un latticino contenente 800 ppb al giorno di cromo trivalente, che non viene somministrato al gruppo di controllo. Dopo 5 settimane di integrazione di cromo, i topi KK/H1J vengono sottoposti a digiuno per la notte e viene di nuovo condotto un GTT. Le variazioni di glucosio nel sangue durante il GTT sono mostrate nella Tabella 1. All'inizio dell'esperimento, i livelli di glucosio nel sangue sono simili nei due gruppi. Tuttavia, i livelli di glucosio nel sangue a 30, 60, 120 e 180 minuti sono significativamente ridotti nel gruppo sperimentale, dopo aver ricevuto un'integrazione di cromo per 5 settimane. Questi risultati suggeriscono che la tolleranza al glucosio sia significativamente migliorata nel gruppo sperimentale.

**Tabella 1****[0038]**

Linea basale	Gruppo di controllo (N = 12)	Gruppo sperimentale (N = 12)
0 min.	163 ± 30	166 ± 20
30 min.	335 ± 46	334 ± 24
60 min.	365 ± 61	356 ± 36
120 min.	287 ± 67	267 ± 67
180 min.	215 ± 66	196 ± 61
Area della curva	876 ± 147	841 ± 117
Dopo integrazione per 5 settimane	Gruppo di controllo (N = 12)	Gruppo sperimentale (N = 12)
0 min.	162 ± 30	141 ± 21
30 min.	311 ± 29	275 ± 35*
60 min.	383 ± 30	287 ± 41***

## CH 698 459 B1

Dopo integrazione per 5 settimane	Gruppo di controllo (N = 12)	Gruppo sperimentale (N = 12)
120 min.	338 ± 64	210 ± 62***
180 min.	246 ± 64	168 ± 67*
Area della curva	944 ± 104	682 ± 129***

[0039] \* p<0,05, differenza significativa rispetto al gruppo di controllo

\*\*\* p<0,01, differenza significativa rispetto al gruppo di controllo

### Esempio di test 2

[0040] Il latticino ottenuto dall'Esempio 5 viene miscelato nell'alimento per topi («Modified LabDiet w/35,5% Lard», PMI® Richmond, Indiana, USA). A 13 settimane di età, dopo un digiuno notturno, vengono condotti test di tolleranza al glucosio (GTT). A seconda dei risultati di GTT, i topi KK/H1J vengono suddivisi casualmente in due gruppi. Al gruppo sperimentale viene somministrato un latticino contenente 800 ppb al giorno di cromo trivalente, che non viene somministrato al gruppo di controllo. Dopo 7 settimane di integrazione di cromo, i topi KK/H1J vengono sottoposti a digiuno per la notte e vengono analizzati i livelli di glucosio nel sangue, trigliceridi, LDL-C (colesterolo lipoproteico a bassa densità), insulina, leptina ed interleuchina-6 (IL-6). I risultati sono mostrati sotto nella Tabella 2. Come risultato, i livelli di glucosio nel sangue, trigliceridi, LDL-C, insulina, leptina e IL-6 sono significativamente ridotti nel siero di topi KK7H1J a cui è stato somministrato un latticino con cromo, rispetto a quelli dei topi KK/H1J di controllo. Questi risultati mostrano che dislipidemia, iperinsulinemia e iperleptinemia sono significativamente migliorate e che un marcatore infiammatorio è significativamente ridotto nel gruppo sperimentale. Pertanto, questi risultati suggeriscono che il latticino con cromo è benefico nel ridurre i marcatori del rischio cardiovascolare e può inoltre prevenire e trattare la malattia cardiovascolare.

**Tabella 2**

[0041]

	Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale
Glucosio nel sangue (mg/dl)	173 ± 30	131 ± 13*
Trigliceridi (mg/dl)	166 ± 35	123 ± 13*
Colesterolo totale (mg/dl)	145 ± 23	150 ± 14
LDL (mg/dl)	10,7 ± 2,2	7,8 ± 1,5*
Insulina (ng/ml)	2,6 ± 1,0	0,7 ± 0,4*
Leptina (ng/ml)	28 ± 10	18 ± 7*
IL-6 (pg/ml)	32 ± 16	18 ± 15*

[0042] \* p<0,05, differenza significativa rispetto al gruppo di controllo

### Esempio di test 3

[0043] Il latticino ottenuto dall'Esempio 5 viene miscelato nell'alimento per topi («Modified LabDiet w/35,5% Lard», PMI® Richmond, Indiana, USA). A 13 settimane di età, dopo un digiuno notturno, vengono condotti test di tolleranza al glucosio (GTT). A seconda dei risultati di GTT, i topi KK/H1J vengono suddivisi casualmente in due gruppi. Al gruppo sperimentale viene somministrato un latticino contenente 800 ppb al giorno di cromo trivalente, che non viene somministrato al gruppo di controllo. Dopo 7 settimane di integrazione di cromo, i topi KK/H1J vengono sacrificati ed i loro cuori asportati. Le dimensioni di infarto del miocardio vengono valutate tramite colorazione con trifeniltetrazolio cloruro (TTC). Le dimensioni di infarto vengono rivelate sul bordo esterno del cuore dei topi di controllo. L'integrazione del latticino con cromo e la sua somministrazione ai topi sperimentali riduce significativamente le dimensioni di infarto del miocardio rispetto al gruppo di controllo (p<0,05).

Tabella 3

[0044]

Gruppo di controllo	Gruppo sperimentale
Dimensioni di infarto del miocardio	Dimensioni di infarto del miocardio
16,8 ± 7,3%	3,1 ± 3,5%*

\* p<0,05, differenza significativa rispetto al gruppo di controllo

#### Esempio di test 4

[0045] Il latticino ottenuto dall'Esempio 5 viene miscelato nell'alimento per topi («Modified LabDiet w/35,5% Lard», PMI® Richmond, Indiana, USA). A 13 settimane di età, dopo un digiuno notturno, vengono condotti test di tolleranza al glucosio (GTT). A seconda dei risultati di GTT, i topi KK/H1J vengono suddivisi casualmente in due gruppi. Al gruppo sperimentale viene somministrato latte in polvere contenente 800 ppb al giorno di cromo trivalente, che non viene somministrato al gruppo di controllo. Dopo 7 settimane di integrazione di cromo nella dieta, i topi KK/H1J vengono sacrificati ed i loro cuori asportati. Poi, i cuori vengono fissati con soluzione al 10% di formalina neutra ed inclusi in cera di paraffina. Da ciascun campione vengono tagliate sezioni seriali (spessore di 10 µm) ed esse vengono colorate con ematossilina ed eosina (H&E). Dopo la colorazione, le sezioni vengono analizzate al microscopio ottico. Nei topi di controllo si osservano aree di necrosi sul bordo esterno del miocardio. Un'alta magnificazione rivela degenerazione di miociti e infiltrazione di macrofagi nell'area di necrosi. Tuttavia, le aree di necrosi sono significativamente ridotte ed i miociti sono normali nei topi sperimentali. Questi risultati suggeriscono che l'integrazione del latticino con cromo migliori la necrosi del miocardio nei topi sperimentali.

[0046] La composizione contenente cromo trivalente e lattoferrina della presente invenzione può essere assunta da un paziente che soffre di malattia cardiovascolare poiché essa può ridurre efficacemente i suoi marcatori di rischio cardiovascolare. Dalle Tabella 1, Tabella 2, e Tabella 3, si dimostra che i disturbi cardiovascolari vengono efficacemente migliorati dopo assunzione del latticino contenente la composizione della presente invenzione.

[0047] Anche se la presente invenzione è stata spiegata in relazione alle sue forme di attuazione preferite, è da intendersi che molte altre possibili modificazioni e variazioni possono essere effettuate senza dipartire dalla portata dell'invenzione, come rivendicata qui di seguito.

#### Rivendicazioni

1. Composizione per prevenire e trattare disturbi cardiovascolari, comprendente: una lattoferrina; e un composto di cromo trivalente; in cui il composto di cromo trivalente è scelto dal gruppo consistente di cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato aminoacidico, cromo Fattore di Tolleranza al Glucosio (GTF), cromo lievito, estratto di cromo lievito, sali inorganici di cromo trivalente, sali organici di cromo trivalente, e loro combinazioni.
2. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui il rapporto molare tra la lattoferrina ed il composto di cromo trivalente varia tra 1:200 e 10:1.
3. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui il rapporto molare tra la lattoferrina ed il composto di cromo trivalente varia tra 1:20 e 1:1.
4. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui la lattoferrina deriva da latte non purificato o da proteine del siero.
5. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui la lattoferrina deriva dal gruppo consistente di lattoferrina di latte di mucca, lattoferrina di latte di capra, latte di mucca non purificata, latte di capra non purificata, e loro combinazioni.
6. Composizione secondo la rivendicazione 1, in cui il composto di cromo trivalente è scelto dal gruppo consistente di cromo (III) cloruro esaidrato, cromo (III) cloruro, cromo (III) acetato, cromo (III) solfato, cromo picolinato, cromo nicotinato, cromo chelato aminoacidico, GTF cromo, cromo lievito, estratto di cromo lievito, e loro combinazioni.
7. Utilizzazione della composizione secondo la rivendicazione 1 come additivo di un latticino, che è scelto da un gruppo consistente di latte fresco di mammiferi, latte a lunga conservazione, latte concentrato, latte fermentato, formaggio, e latte in polvere.