



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 274 246**

51 Int. Cl.:
A23L 1/29 (2006.01)
A61K 31/715 (2006.01)
A23L 1/054 (2006.01)
C08L 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03736724 .0**
86 Fecha de presentación : **27.05.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1513418**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **16.03.2005**

54 Título: **Utilización de pululano como un carbohidrato digerido lentamente.**

30 Prioridad: **12.06.2002 US 167912**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2007

73 Titular/es: **ABBOTT LABORATORIES**
Dept. 377/AP6D-2, 100 Abbott Park Road
Abbott Park, Illinois 60064, US

72 Inventor/es: **Wolf, Bryan, W.**

74 Agente: **Ungría López, Javier**

ES 2 274 246 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

Utilización de pululano como un carbohidrato digerido lentamente.

5 Esta solicitud está dirigida a la utilización de un nuevo carbohidrato digerido lentamente, el pululano, en el tratamiento dietético de los diabéticos en particular para producir una respuesta de glucemia amortiguada en un paciente diabético.

Antecedentes

10 El tratamiento primario de la intolerancia a la glucosa es la observancia estricta de una dieta que minimice la respuesta de glucosa postprandial y, en muchos casos, la utilización de medicaciones (insulina o agentes hipoglucémicos orales).

15 Antes de 1921, la inanición era el único tratamiento reconocido de la diabetes mellitus (DM). Desde el descubrimiento de la insulina exógena la dieta ha sido un foco principal de la terapia. Las recomendaciones para la distribución de calorías procedentes de carbohidratos y grasa han cambiado durante los últimos 75 años. Sobre la base de las opiniones de la época, las mejores mezclas para estimular el control metabólico están enumeradas en la Tabla 1 siguiente.

TABLA 1

Historia de la Distribución Calórica Recomendada para las Personas con DM

Año	Carbohidratos (%)	Proteínas (%)	Grasas (%)
1921	20	10	70
1950	40	20	40
1971	45	20	35
1986	50-60	12-20	30
1994	*	10-20	*Λ
* sobre la base de la valoración nutricional			
Λ <10% de grasas saturadas			

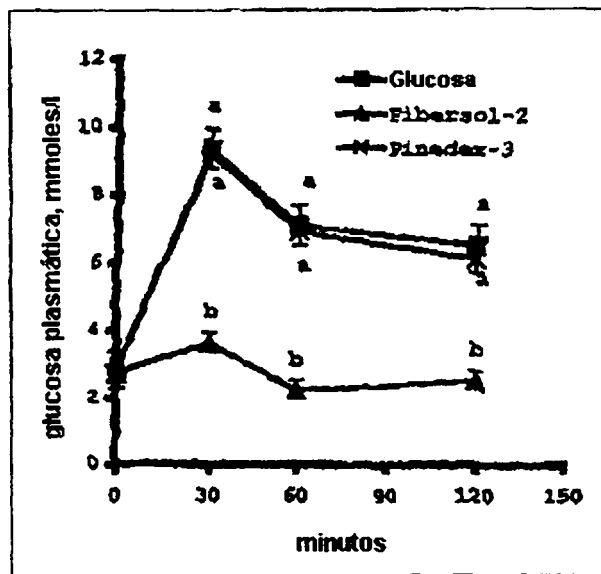
Las primeras recomendaciones limitaban los carbohidratos de la dieta, ya que el control de la glucemia era generalmente mejor con este tipo de régimen. Sin embargo, a lo largo de los años los investigadores encontraron que dietas bajas en carbohidratos y ricas en grasas estaban asociadas con dislipidemias y enfermedad cardiovascular. En 1950, la Asociación de Diabetes Americana (ADA) recomendó incrementar la proporción de calorías proporcionadas por los carbohidratos con el fin de disminuir el riesgo cardiovascular. A medida que la comunidad médica iba conociendo mejor la diabetes, las recomendaciones sobre la dieta continuaron evolucionando sugiriendo un consumo incrementado de carbohidratos.

50 Parte de esta evolución resultó del descubrimiento de que no todos los carbohidratos producen una respuesta de glucemia equivalente. Los azúcares simples, tales como la glucosa, son absorbidos rápidamente por los humanos y producen un pico inmediato de los niveles de glucosa sanguínea de un diabético. Los carbohidratos más complejos, tales como los almidones, no producen tal pico inmediato. Los carbohidratos complejos no son absorbidos directamente. Son convertidos enzimáticamente en glucosa y en otros azúcares simples durante el proceso de la digestión. Por tanto, los carbohidratos complejos producen una respuesta de glucemia poco acusada en los diabéticos, debido a que son convertidos gradualmente en glucosa y absorbidos a una velocidad reducida.

60 Otros carbohidratos complejos, tales como las fibras, son considerados indigeribles. Estos carbohidratos indigeribles son típicamente polisacáridos poliméricos. Contienen enlaces glucosídicos que los enzimas humanos son incapaces de cortar. De este modo, aunque los polisacáridos producen una sensación de saciedad en el paciente, no son digeridos y no conducen finalmente a una absorción de glucosa.

65 Tsuji y col. demostraron gráficamente el impacto que tenía un polisacárido indigerible sobre los niveles de glucosa sanguínea en un modelo en rata en J. Agric. Food Chem., 1998, 46, 2253. Esta gráfica es reproducida a continuación para comodidad del lector:

Esquema 1



Como revisión de esta gráfica, la administración oral de glucosa producía un aumento significativo de los niveles de glucosa sanguínea (un incremento de 5 veces aproximadamente). En contraste, el polisacárido indigerible que estaba caracterizando Tsuji, Fibersol™, no producía esencialmente ningún cambio en los niveles de glucosa sanguínea de los animales.

Por tanto, la frase "polisacárido indigerible" es un término de la técnica para los científicos dedicados a la alimentación y nutrición. Se utiliza para describir un carbohidrato que los enzimas digestivos humanos son incapaces de convertir en glucosa o en otros azúcares simples. En la literatura se han descrito varios polisacáridos indigeribles. Éstos incluyen pectinas, celulosas, gomas vegetales (por ejemplo goma guar), hemicelulosa, polidextrosa, goma xantana, inulina, exudados de plantas, polisacáridos de algas, celulosas modificadas, almidones modificados (por ejemplo Fibersol™ 2), etc.

Otro carbohidrato indigerible está disponible en Hayashibara Co., Ltd., de Okayama, Japón, y es referido como pululano. Hayashibara informa que el pululano es un plástico comestible que tiene propiedades adhesivas. Describe que el pululano es seguro para ser utilizado como ingrediente alimentario. Ha sido utilizado como texturizante en condimentos, aliños y productos cárnicos. Hayashibara recomienda también la utilización de pululano como tinta comestible.

Hayashibara ha evaluado la digestibilidad del pululano. Informa que el pululano es indigerible, como la celulosa o la pectina. Los datos de la Tabla 1 están reproducidos de un material de apoyo para ventas de Hayashibara. Describe los efectos de los enzimas digestivos sobre el pululano.

TABLA 1

Los efectos de diferentes enzimas sobre el Pululano según lo descrito por el fabricante Hayashibara Co., Ltd.					
Fuente Enzimática	pH	Especimen 1*		Especimen 2*	
		3 horas	22 horas	3 horas	22 horas
Intestino delgado porcino	6,8	0	0,72	0,088	0,51
Páncreas	5,0	0,46	0,90	1,52	-
Saliva	6,0	0,48	2,33	0,48	2,5
Hígado porcino	6,8	0,72	-	0,72	-

*Formación de azúcares reductores (en mg) por 20 mg de Pululano (esto es, rotura de enlaces entre las subunidades de glucosa del Pululano).

ES 2 274 246 T3

Otras entidades además de Hayashibara han evaluado también las propiedades del Pululano. La atención del lector es dirigida hacia las Patentes de Estados Unidos N^{os} 5.116.820 y 4.629.725. Hiji describe que el pululano inhibe la absorción de sacarosa. Por tanto, puede ser añadido a alimentos diseñados para diabéticos a niveles del 0,25% al 5%, sobre la base del peso total del carbohidrato presente en el alimento. Hiji describe también que la coadministración de ácido ginnémico incrementa las propiedades anti-absorción del pululano.

Kimoto y col. informaron sobre los resultados de un ensayo de seguridad en animales llevado a cabo con pululano. Food and Chemical Toxicology 23, (1997) 323-329. Kimoto describe también que el pululano es un polisacárido indigerible. En la página 324, Kimoto y col. describen que se generó una cantidad mínima de glucosa por el pululano cuando fue expuesto a enzimas.

La Patente de EE.UU. 4.629.725 describe un método para inhibir el incremento del contenido de azúcar en sangre que se produce normalmente de la ingestión de alimentos que contienen almidón y/o sacarosa mediante la adición de pululano al alimento en una proporción en peso de pululano respecto al almidón y/o a la sacarosa de 1:400 a 1:20. Describe además un producto alimentario conteniendo almidón y/o sacarosa al cual se añade pululano en una proporción en peso de pululano respecto al almidón y/o a la sacarosa de 1:400 a 1:20.

La Patente de EE.UU. 3.875.308 describe la utilización de pululano para sustituir al almidón en alimentos sólidos y líquidos con el fin de reducir el valor calórico del alimento.

Por tanto, una lectura imparcial de la técnica anterior es que se ha descrito que el pululano es un polisacárido indigerible. Esto significa que los humanos no convertirán el pululano en glucosa y que la ingestión de pululano no incrementará los niveles de glucosa sérica. Por tanto, aunque la literatura describe que el pululano puede tener eficacia como fibra, esto no motivaría a la utilización de pululano como carbohidrato de digestión lenta. La técnica anterior describe que tal utilización sería infructuosa debido a que los humanos son incapaces de convertir el pululano en glucosa o en otros azúcares simples.

Resumen de la invención

De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que la literatura ha caracterizado erróneamente al pululano. El pululano no es un carbohidrato indigerible. De hecho, se ha descubierto que el pululano es un carbohidrato digerido lentamente. Esto significa que los enzimas humanos convierten gradualmente el pululano en glucosa. La conversión gradual de pululano en glucosa tendrá como resultado un aumento gradual de los niveles de glucosa sanguínea en un humano.

El descubrimiento de esta caracterización errónea significa que los solicitantes han descubierto varios usos nuevos para el pululano. Como carbohidrato digerido lentamente, cantidades sustanciales de pululano pueden ser incorporadas a productos sustitutivos de la comida diseñados para diabéticos, proporcionando de este modo una respuesta de glucemia poco acusada. El pululano puede ser incorporado a productos sustitutivos de las comidas tales como bebidas y barritas.

El pululano puede ser utilizado también para controlar la hipoglucemia nocturna de los diabéticos con necesidad de tal terapia.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 presenta la respuesta de glucemia de ratas Zucker alimentadas con pululano y maltodextrina según está descrito en el Ejemplo IV.

La Figura 2 presenta el cambio incremental de los niveles de glucosa sanguínea según está descrito en el Ejemplo IV.

La Figura 3 se presenta con fines comparativos. Describe datos publicados por Pfizer Inc., Solicitud de aditivo alimentario para la Polidextrosa, New York: Pfizer Inc., 1978 (solicitud a la FDA (A3441)). Compara la respuesta de glucemia producida por glucosa y por el polisacárido indigerible polidextrosa en sujetos con diabetes de aparición en la madurez. Según está representado en la Figura 3, el carbohidrato indigerible no tenía esencialmente ningún efecto sobre los niveles de glucosa sanguínea de los sujetos (esto es, el compuesto no fue convertido en glucosa).

La Figura 4 representa la respuesta de glucemia de sujetos humanos alimentados con maltodextrina y pululano, según está descrito en el Ejemplo V.

Descripción detallada de la invención

Según se utilizan en esta solicitud, los términos siguientes tienen los significados especificados a continuación, a no ser que se indique de otro modo. Debe considerarse que el plural y el singular tienen los mismos significados, aparte de la cantidad:

ES 2 274 246 T3

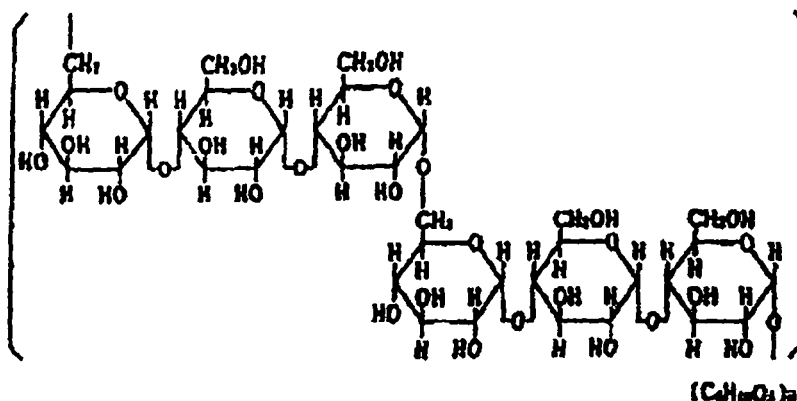
- 5 a) la “respuesta de glucemia relativa” (GI) es calculada dividiendo el área bajo la curva (AUC) del incremento de glucosa en sangre procedente del alimento de ensayo entre el AUC del incremento de glucosa sanguínea procedente del alimento de referencia y multiplicando por 100, donde el contenido de carbohidratos de los alimentos de ensayo y de referencia es el mismo. El alimento de referencia es típicamente glucosa o pan blanco, que tiene la GI estándar de 100.
- b) Una “respuesta de glucemia amortiguada” se refiere a la reducción de la “respuesta de glucemia relativa” cuando se compara con una dosis equivalente de glucosa.
- 10 c) “Hipoglucemia” se refiere a una disminución de la concentración de la glucosa plasmática hasta un nivel suficiente para producir síntomas, con atenuación de los síntomas después del restablecimiento de la concentración normal de glucosa.
- 15 d) “DM” se refiere a diabetes mellitus y se describe con detalle en Diabetes mellitus de Joslin, Kahn y Weir (eds) 1994.
- e) “Carbohidrato indigerible” se refiere a un carbohidrato que es resistente a la digestión endógena en el tracto digestivo superior de los humanos o de cualquier animal no rumiante.
- 20 f) Los términos “carbohidrato indigerible”, “polisacárido indigerible”, “carbohidrato no digerible” y “polisacárido no digerible” deben ser considerados sinónimos.
- g) “Carbohidrato digerido lentamente” se refiere a un carbohidrato que tiene una velocidad de digestión lenta, de estos carbohidratos el patrón oro es el almidón de maíz crudo, y más específicamente tiene una velocidad de digestión que es más lenta que la del almidón de maíz hidrolizado (por ejemplo Lodex 15[®] de Cerester).
- 25 h) “Carbohidrato digerido rápidamente” se refiere a un carbohidrato que es rápidamente digerido, por ejemplo maltodextrina no modificada (por ejemplo Lodex 15[®] de Cerester) y que es digerido a una velocidad igual o más rápida que una maltodextrina no modificada tal como Lodex 15[®].
- 30 i) El término “calorías totales” se refiere al contenido calórico total de un peso o volumen definido del producto nutricional acabado.
- 35 j) El término “producto sustitutivo de las comidas” y el término “productos nutricionales” deben ser considerados sinónimos.
- k) El término “contenido total de carbohidratos” se refiere a la suma de todos los componentes carbohidratados definidos analíticamente como Sólidos Totales - (Cenizas + Grasas + Proteínas).
- 40 l) El término “Ingestión Diaria de Referencia o RDI”, se refiere a un conjunto de referencias de la dieta basadas en las Cantidades Dietéticas Recomendadas para vitaminas y minerales esenciales. Las Cantidades Dietéticas Recomendadas son un conjunto de cantidades de nutrientes calculadas establecidas por la National Academy of Sciences, que son actualizadas periódicamente para reflejar el conocimiento científico actual.
- 45 m) El término “paciente” se refiere a humanos, perros, gatos y cualquier otro animal no rumiante.
- n) Debe considerarse que cualquier referencia en esta solicitud a un rango numérico está modificada por el adverbio “aproximadamente”. Además, debe considerarse que cualquier rango numérico proporciona soporte a una afirmación dirigida a un subgrupo de ese rango. Por ejemplo, debe considerarse que una descripción de un rango de 1 a 10 proporciona soporte en la especificación y en las reivindicaciones a cualquier subgrupo de ese rango (esto es, rangos de 2-9, 3-6, 4-5, 2,2-3,6, 2,1-9,9, etc.).
- 50

55 Según se indicó anteriormente, la técnica anterior ha caracterizado erróneamente al pululano. La literatura contiene datos en animales que documentan que el pululano es un carbohidrato no digerible. Según se demostrará en la sección experimental de esta solicitud, esta caracterización es incorrecta. Los solicitantes han demostrado que, en humanos, el pululano es un carbohidrato digerido lentamente.

60 El pululano es un polisacárido viscoso, soluble en agua, un alfa-glucano, que consta de unidades de glucosa con una estructura lineal relativamente sencilla, esto es, unidades de tres moléculas de glucosa unidas en alfa-1,4 que están polimerizadas repetidamente por enlaces alfa-1,6 en la glucosa terminal. Los almidones de alimentos típicos tales como el almidón de maíz, constan de un 27% de amilosa (moléculas de glucosa unidas en alfa-1,4) y un 73% de amilopectina, que contiene enlaces de glucosa alfa-1,4 y alfa-1,6. Para el pululano, sin embargo, el enlace alfa-1,6 sirve para entrecruzar cadenas cortas individuales, teniendo como resultado una estructura escalonada (Estructura A).

65 Como el pululano tiene un peso molecular medio de 50.000-500.000, n en la Fig. 2 varía de 300 a 3000. Kimoto y col., Food and Chemical Toxicology, 35 (1997) 323-329.

Estructura A



20 El pululano es elaborado extracelularmente por la levadura negra *Aureobasidium pullulans*. Es producido cultivando esta misma levadura en un medio con suficientes fuentes de carbono y nitrógeno y minerales, bajo aireación. El pululano es recuperado del fluido del cultivo mediante centrifugación. Es posteriormente fraccionado típicamente con alcohol y purificado según es conocido en la técnica, Kimoto y col., *supra*. El pululano está también disponible comercialmente en Hayashibara Co. Ltd. de Okayama, Japón.

Según se indicó anteriormente, se ha descubierto que el pululano es un carbohidrato digerido lentamente. Este efecto puede ser conseguido con cualquiera de las moléculas de pululano que tienen los pesos moleculares variables anteriormente descritos. De acuerdo con la utilización de la presente invención, puede administrarse un producto sustitutivo de las comidas que contiene el pululano, en el cual el pululano es una mezcla de pululano con pesos moleculares variables. Si se desea, pueden utilizarse también materiales muy purificados de un único peso molecular.

Los efectos beneficiosos que tiene el pululano sobre los niveles de glucosa sanguínea de un diabético pueden ser conseguidos de varias formas. Si se desea, de acuerdo con la utilización de la presente invención, puede administrarse un producto sustitutivo de las comidas conteniendo el pululano, en el cual el pululano está sin ningún vehículo. La dosis diaria total para el diabético variará ampliamente, pero típicamente un diabético obtendrá beneficio del consumo de 1-150 g/día de pululano.

Aunque el pululano puede ser administrado como una única entidad, de acuerdo con la mención será incorporado a productos sustitutivos de las comidas y consumido por el diabético durante sus comidas o tentempiés. Si se desea, los diabéticos pueden modificar simplemente la receta de los alimentos que consumen normalmente. Pueden sustituir simplemente la glucosa, y otros carbohidratos digeridos rápidamente, por una cantidad equivalente de pululano. La sustitución de los azúcares digeridos rápidamente por pululano reducirá significativamente el índice glucémico del alimento.

Aunque tal estrategia producirá alimentos con una respuesta de glucemia amortiguada, producirá también una dieta relativamente suave que muchos individuos encontrarán desagradable debido a que el pululano es insípido. Por tanto, en una realización adicional, el pululano será incorporado a bebidas, barritas, que han sido diseñadas específicamente para incrementar la palatabilidad del pululano e incrementar de este modo la aceptación por el paciente/consumidor.

Típicamente, el pululano será incorporado a bebidas sustitutivas de las comidas tales como Glucema[®], Ensure[®], Choice DM[®], Slim Fast[®], Pediasure[®], Glytrol[®], Resource[®] Diabetic, etc. El pululano puede ser también incorporado a barritas sustitutivas de las comidas tales como PowerBars[®], barritas Glucema[®], barritas Choice DM[®], barritas Ensure[®] y barritas Boost[®], etc. Alternativamente, el pululano puede ser incorporado a zumos, bebidas carbonatadas, agua embotellada, etc. Los métodos para producir cualquiera de tales productos alimenticios o bebidas son bien conocidos por los expertos en la técnica. La discusión siguiente está destinada a ilustrar tales productos sustitutivos de las comidas para los diabéticos y su preparación.

La mayoría de los productos sustitutivos de las comidas (esto es, barritas o líquidos) proporcionan calorías procedentes de grasas, carbohidratos y proteínas. Estos productos contienen también típicamente vitaminas y minerales, ya que están destinados a ser adecuados para su utilización como única fuente de nutrición. Aunque estos productos sustitutivos de las comidas pueden servir como única fuente de nutrición, típicamente no es así. Los individuos consumen estos productos para sustituir una o dos comidas al día, o para proporcionar un tentempié saludable. Debe considerarse que los productos nutricionales de esta invención incluyen cualquiera de estas realizaciones.

ES 2 274 246 T3

La cantidad de estos ingredientes nutricionales puede variar ampliamente dependiendo de la población de pacientes diana (esto es, diabéticos frente a no diabéticos, consideraciones organolépticas, preferencias culturales, uso, etc.). Como directriz general no limitante, sin embargo, los productos sustitutivos de las comidas de esta invención contendrán las cantidades relativas siguientes de proteínas, grasas y carbohidratos (sobre la base del porcentaje relativo de calorías totales):

TABLA 2

Rangos de los Componentes de las Fórmulas Nutricionales

Componente	Rango preferido (% de Calorías)	Rango más preferido (% de Calorías)
Fuente de proteínas	0 - 35	15 - 25
Fuente de grasas	≤ 55	10 - 40
Sistema de carbohidratos*	25 - 100	25 - 55
*incluyendo pululano		

La novedad de estos productos sustitutivos de las comidas es la utilización de pululano para proporcionar una fuente significativa de calorías procedentes de carbohidratos. Según se indicó anteriormente, el carbohidrato proporcionará del 25-80% aproximadamente de las calorías totales. Debe incorporarse al producto suficiente pululano con el fin de que el pululano proporcione del 10 al 50% de las calorías totales procedentes de carbohidratos.

La porción restante del sistema de carbohidratos (esto es, uno o más carbohidratos incluyendo pululano) puede ser proporcionada por cualquier sistema de carbohidratos adecuado para los humanos, teniendo en cuenta las restricciones de la dieta relevantes para un diabético. Ejemplos de carbohidratos adecuados que pueden ser utilizados incluyen, almidón, almidón modificado, almidón de maíz hidrolizado, maltodextrina, polímeros de glucosa, sacarosa, sólidos del jarabe de maíz, glucosa, fructosa, lactosa, jarabe de maíz con alto contenido en fructosa, fructooligosacáridos, miel, fibra dietética, alcoholes de azúcares (por ejemplo, maititol).

Se han diseñado mezclas de carbohidratos especializadas para ayudar a los diabéticos a moderar sus niveles de glucosa sanguínea. Ejemplos de tales mezclas de carbohidratos están descritos en la Patente de EE.UU. 4.921.877 para Cashmere y col., en la Patente de EE.UU. 5.776.887 para Wibert y col., en la Patente de EE.UU. 5.292.723 para Audry y col. y en la Patente de EE.UU. 5.470.839 para Laughlin y col., cuyos contenidos se incorporan todos a la presente por referencia. Cualquiera de estas mezclas de carbohidratos puede ser utilizada en asociación con pululano para reducir adicionalmente el índice glucémico del producto.

Si se desea, pueden incorporarse también carbohidratos no absorbibles al sistema de carbohidratos. Estos carbohidratos no absorbibles comprenderán una cantidad menor o igual que el 20% p/p aproximadamente del sistema de carbohidratos, y más típicamente menor o igual que el 15% p/p aproximadamente del sistema de carbohidratos. El término "carbohidrato no absorbible" se refiere a un resto carbohidratado con un grado de polimerización mayor de 20 aproximadamente y/o un peso molecular mayor de 3.600 aproximadamente, que es resistente a la digestión endógena en el tracto digestivo superior humano. Los carbohidratos no absorbibles poseen muchas de las características de la fibra dietética total. Sin embargo, no son cuantificables mediante el Método 32-07 de la AACC para la fibra y por consiguiente no están incluidos en los valores de fibra dietética total de la presente invención. Ejemplos de fuentes de carbohidratos no absorbibles de la presente invención incluyen típicamente almidones modificados tales como Fibersol[®], polidextrosa e inulina.

Típicamente, el sistema de carbohidratos contendrá también fibra dietética. La cantidad de fibra dietética puede variar significativamente pero estará típicamente en el rango del 3 al 20% p/p del sistema de carbohidratos (en peso seco). Se comprende que la fibra dietética, según se utiliza en la presente y en las reivindicaciones, está compuesta por todos los componentes de un alimento que no son degradados por los enzimas endógenos del tracto digestivo humano para dar lugar a moléculas pequeñas que son absorbidas en la corriente sanguínea. Estos componentes de los alimentos son en su mayoría celulosas, hemicelulosas, pectina, gomas, mucílagos y ligninas. Las fibras difieren significativamente en su composición química y en su estructura física y, por tanto, en sus funciones fisiológicas.

Las propiedades de las fibras (o de los sistemas de fibras) que tienen impacto sobre la función fisiológica son la solubilidad y la fermentabilidad. Con respecto a la solubilidad, las fibras pueden ser divididas en tipos solubles e insolubles sobre la base de la capacidad de la fibra para ser solubilizada en una solución tampón a un pH defi-

nido. Las fuentes de fibra difieren en la cantidad de fibra soluble e insoluble que contienen. Según se utiliza en la presente y en las reivindicaciones, la fibra dietética “soluble” e “insoluble” es determinada utilizando el Método 32-07 de la American Association of Cereal Chemists (AACC). Según se utiliza en la presente y en las reivindicaciones, se comprende que la “fibra dietética total” o la “fibra dietética” es la suma de las fibras solubles e insolubles determinadas mediante el Método 32-07 de la AACC y donde al menos un 70% en peso de la fuente de fibra comprende fibra dietética. Según se utiliza en la presente y en las reivindicaciones, una fuente de fibra dietética “soluble” es una fuente de fibra en la que al menos un 60% de la fibra dietética es fibra dietética soluble determinada mediante el Método 32-07 de la AACC, y una fuente de fibra dietética “insoluble” es una fuente de fibra en la que al menos un 60% de la fibra dietética total es fibra dietética insoluble determinada mediante el Método 32-07 de la AACC.

Fuentes de fibra dietética soluble representativas son goma arábica, carboximetil celulosa de sodio, goma guar, pectina cítrica, pectina alta y baja en metoxi, glucanos de avena y cebada, carragenina y psilium. Están disponibles numerosas fuentes comerciales de fibras dietéticas solubles. Por ejemplo, goma arábica, carboximetil celulosa, goma guar, pectina y las pectinas altas y bajas en metoxi están disponibles en TIC Gums, Inc., de Belcamp, Maryland. Los glucanos de avena y cebada están disponibles en Mountain Lake Specialty Ingredients, Inc., de Omaha, Nebraska. Psilium está disponible en la Meer Corporation de North Bergen, New Jersey, mientras que la carragenina está disponible en la FMC Corporation de Philadelphia, Pennsylvania.

Son representativas de fibras dietéticas insolubles la fibra de la cáscara de avena, la fibra de la cascarilla del guisante, la fibra de la cáscara de soja, la fibra de los cotiledones de soja, la fibra de la remolacha, la celulosa y el salvado de maíz. Están también disponibles numerosas fuentes de fibras dietéticas insolubles. Por ejemplo, el salvado de maíz está disponible en Quaker Oats de Chicago, Illinois; la fibra de la cáscara de avena en Canadian Harvest de Cambridge, Minnesota; la fibra de la cascarilla del guisante en Woodstone Foods de Winnipeg, Canadá; la fibra de la cáscara de soja y la fibra de la cáscara de avena en The Fibrad Group de LaVale, Maryland; la fibra de cotiledones de soja está disponible en Protein Technologies International de St. Louis, Missouri; la fibra de remolacha en Delta Fiber Foods de Minneapolis, Minnesota y la celulosa está disponible en la James River Corp. de Saddle Brook, New Jersey.

Una discusión más detallada sobre las fibras y su incorporación a fórmulas puede encontrarse en la Patente de Estados Unidos N° 5.085.883 publicada por Garleb y col., que se incorpora de este modo por referencia.

Además de fibra, los productos nutricionales pueden contener también oligosacáridos indigeribles tales como fructooligosacáridos (FOS). Los oligosacáridos indigeribles son fermentados rápidamente y extensamente para dar ácidos grasos de cadena corta por los microorganismos anaerobios que residen en el intestino grueso. Estos oligosacáridos son fuentes de energía preferentes para la mayoría de las especies de *Bifidobacterium*, pero no son utilizados por organismos potencialmente patógenos tales como *Clostridium perfringens*, *C. Difficile* o *E. coli*. El término “oligosacárido indigerible” se refiere a un pequeño resto carbohidratado con un grado de polimerización menor o igual que 20 aproximadamente y/o un peso molecular menor o igual que 3.600 aproximadamente, que es resistente a la digestión endógena en el tracto digestivo superior humano.

Los productos sustitutivos de las comidas contienen también típicamente una fuente de proteínas. La fuente de proteínas puede contener proteínas intactas, proteínas hidrolizadas, aminoácidos o alguna combinación de los mismos. Las proteínas que pueden ser utilizadas en los productos nutricionales incluyen cualquier proteína adecuada para el consumo humano. Tales proteínas son bien conocidas por los expertos en la técnica y pueden ser seleccionadas fácilmente cuando se preparan tales productos. Ejemplos de proteínas adecuadas que pueden ser utilizadas incluyen típicamente caseína, suero de leche, proteína de la leche, soja, guisante, arroz, maíz, proteína hidrolizada y mezclas de las mismas. Fuentes comerciales de proteínas están fácilmente disponibles y son conocidas por las personas que practican la técnica. Por ejemplo, caseinatos, suero de leche, caseinatos hidrolizados, suero de leche hidrolizado y proteínas de la leche están disponibles en New Zealand Milk Products de Santa Rosa, California. Las proteínas de soja y de soja hidrolizadas están disponibles en Protein Technologies International de Saint Louis, Missouri. La proteína del guisante está disponible en Feinkost Ingredients Company de Lodi, Ohio. La proteína del arroz está disponible en California Natural Products de Lathrop, California. La proteína del maíz está disponible en EnerGenetics Inc. de Keokuk, Iowa.

El tercer componente de los productos nutricionales de esta invención es la grasa. La fuente de grasa para la presente invención puede ser cualquier fuente de grasa o mezcla de fuentes de grasa adecuadas para consumo humano. Típicamente, la grasa proporciona los niveles deseados de ácidos grasos saturados, poliinsaturados y monoinsaturados. Una persona con experiencia en la técnica puede calcular fácilmente qué cantidad de fuente de grasa debe ser añadida al producto nutricional con el fin de proporcionar los niveles deseados de ácidos grasos saturados, poliinsaturados y monoinsaturados. Ejemplos de grasas de grado alimentario son bien conocidos en la técnica e incluyen típicamente aceite de soja, aceite de oliva, aceite marino, aceite de girasol, aceite de girasol con alto contenido de ácido oleico, aceite de cártamo, aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico, aceite de coco fraccionado, aceite de la semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de canola, aceite de palma, aceite de almendra de palma, aceite de linaza, triglicéridos de cadena media (MCT) y mezclas de los mismos. Si se desea, pueden incorporarse al producto nutricional lípidos estructurados.

ES 2 274 246 T3

Numerosas fuentes comerciales de las grasas enumeradas anteriormente están fácilmente disponibles y son conocidas por las personas que practican la técnica. Por ejemplo, los aceites de soja y canola están disponibles en Archer Daniels Midland de Decatur, Illinois. Los aceites de maíz, coco, palma y almendra de palma están disponibles en Premier Edible Oils Corporation de Portland, Oregon. El aceite de coco fraccionado está disponible en Henkel Corporation de LaGrange, Illinois. El aceite de cártamo con alto contenido de ácido oleico y el aceite de girasol con alto contenido de ácido oleico están disponibles en SVO Specialty Products de Eastlake, Ohio. El aceite marino está disponible en Mochida International de Tokyo, Japón. El aceite de oliva está disponible en Anglia Oils de North Humberstone, Reino Unido. El aceite de girasol y el aceite de la semilla de algodón están disponibles en Cargil de Minneapolis, Minnesota. El aceite de cártamo está disponible en California Oils Corporation de Richmond, California. Los lípidos estructurados están disponibles en Stepan Oils, que tiene oficinas en los Estados Unidos y con quien se puede contactar en www.stepan.com.

Las composiciones nutricionales de la invención contienen típicamente vitaminas y minerales. Se sabe que las vitaminas y los minerales son esenciales en la dieta diaria. Los expertos en la técnica saben que se han establecido unos requisitos mínimos para ciertas vitaminas y minerales que se conoce que son necesarios para la función fisiológica normal. Los expertos comprenderán también que se necesita proporcionar a las composiciones nutricionales cantidades adicionales apropiadas de ingredientes vitamínicos y minerales con el fin de compensar cierta pérdida durante el procesamiento y el almacenamiento de tales composiciones. Adicionalmente, el experto sabe que ciertos micronutrientes pueden tener un beneficio potencial para personas con diabetes tales como cromo, carnitina, taurina y vitamina E y que pueden existir requisitos dietéticos mayores de ciertos micronutrientes tales como el ácido ascórbico debido a una mayor renovación en personas con diabetes de tipo 2.

Un ejemplo del sistema de vitaminas y minerales para un producto nutricional completo utilizado como única fuente de nutrición comprende típicamente al menos un 100% de la RDI de las vitaminas A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, D, E, K, beta-caroteno, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina y colina; de los minerales calcio, magnesio, potasio, sodio, fósforo y cloruro; de los minerales traza hierro, zinc, manganeso, cobre y yodo; de los minerales ultratraza cromo, molibdeno, selenio; y de los nutrientes condicionalmente esenciales m-inositol, carnitina y taurina desde 350 Kcal aproximadamente a 5600 Kcal aproximadamente.

Un ejemplo del sistema de vitaminas y minerales para un producto nutricional utilizado como suplemento nutritivo comprende típicamente al menos un 25% de la RDI de las vitaminas A, B₁, B₂, B₆, B₁₂, C, D, E, K, beta-caroteno, biotina, ácido fólico, ácido pantoténico, niacina y colina; de los minerales calcio, magnesio, potasio, sodio, fósforo y cloruro; de los minerales traza hierro, zinc, manganeso, cobre y yodo; de los minerales ultratraza cromo, molibdeno, selenio; y de los nutrientes condicionalmente esenciales m-inositol, carnitina y taurina en una única ración de 50 Kcal aproximadamente a 800 Kcal aproximadamente.

Pueden añadirse también al producto nutricional edulcorantes artificiales con el fin de incrementar la calidad organoléptica de la fórmula. Ejemplos de edulcorantes artificiales adecuados incluyen sacarina, aspartame, acesulfame K y sucralosa. Los productos nutricionales de la presente invención incluirán también deseablemente un aromatizante y/o un color para proporcionar a los productos nutricionales un aspecto atractivo y un sabor aceptable para consumo oral. Ejemplos de aromatizantes útiles incluyen típicamente, por ejemplo, fresa, melocotón, nuez pacana, chocolate, banana, frambuesa, naranja, arándano y vainilla.

Los productos nutricionales de esta invención pueden ser producidos utilizando técnicas bien conocidas por los expertos en el oficio. Para los productos sustitutivos de las comidas líquidos, hablando de manera general, se prepara una mezcla de aceites y fibra que contiene todos los aceites, algún emulsionante, fibra y las vitaminas solubles en grasa. Se preparan tres suspensiones más (el carbohidrato y dos proteínas) separadamente mezclando el carbohidrato y los minerales y la proteína en agua. Las suspensiones son luego mezcladas con la combinación de aceites. La mezcla resultante es homogeneizada, procesada por calor, estandarizada con vitaminas solubles en agua, aromatizada y finalmente el líquido es esterilizado o secado para producir un polvo. Alternativamente, la fórmula homogeneizada puede ser mantenida sin diluir y vertida en recipientes apropiados como un pudín o bien secada para formar un polvo. El producto es posteriormente envasado. Típicamente, el envase proporcionará instrucciones para su utilización por el consumidor final (esto es, para ser consumido por un diabético).

Las composiciones nutricionales sólidas tales como barritas pueden ser también producidas utilizando técnicas conocidas por los expertos en el oficio. Por ejemplo, pueden ser producidas utilizando la tecnología de extrusión en frío según es conocida en la técnica. Para preparar tales composiciones, típicamente todos los componentes en polvo serán mezclados juntos en seco. Tales constituyentes incluyen típicamente las proteínas, las premezclas de vitaminas, ciertos carbohidratos, etc. Los componentes solubles en grasa son combinados posteriormente y mezclados con la premezcla en polvo anterior. Finalmente, se mezclan en la composición los componentes líquidos formando una composición o masa similar a plástico.

El proceso anterior está destinado a proporcionar una masa plástica que puede ser posteriormente moldeada, sin que tengan lugar cambios físicos o químicos adicionales, mediante el procedimiento conocido como moldeado o extrusión en frío. En este proceso, la masa plástica es forzada a una presión relativamente baja a través de una boquilla, que confiere la forma deseada. El exudado resultante es luego cortado en una posición apropiada para dar productos con el peso deseado. Si se desea, el producto sólido es posteriormente revestido para aumentar su palatabilidad y envasado

ES 2 274 246 T3

para su distribución. Típicamente, el envoltorio proporcionará instrucciones para su utilización por el consumidor final (esto es, para ser consumido por un diabético).

Según se indicó anteriormente, el pululano puede ser también incorporado a zumos, bebidas no carbonatadas, bebidas carbonatadas, aguas aromatizadas (de aquí en adelante, colectivamente "bebidas"), etc. El pululano proporcionará del 10 al 50% de las calorías totales procedentes de los carbohidratos de las bebidas. Los métodos para producir tales bebidas son bien conocidos en la técnica. Se dirige la atención del lector a las Patentes de Estados Unidos N^{os} 8.178.980 y 5.792.502, cuyos contenidos se incorporan de este modo por referencia. Por ejemplo, todos los carbohidratos, incluyendo el pululano, son disueltos en un volumen apropiado de agua. Los aromas, colores, vitaminas, etc., son posteriormente añadidos opcionalmente. La mezcla es posteriormente pasteurizada, envasada y almacenada hasta su distribución.

Ejemplo I

De la Invención

Un método para seleccionar carbohidratos por su idoneidad para ser incluidos en dietas para diabéticos es determinar la velocidad a la cual son digeridos por enzimas animales o humanos en un modelo de digestión *in vitro*. Esta técnica es bien conocida en el oficio y ha sido descrita por Muir y O'Dea en American Journal of Clinical Nutritional (1992) 56:123-127 y en American Journal of Clinical Nutritional (1993) 57:540-546. Este análisis se llevó a cabo inicialmente con el pululano. Una muestra de pululano fue tratada con calor mediante autoclavado durante 10 minutos a 15 psi y 121°C, para producir las condiciones utilizadas rutinariamente en la fabricación de alimentos.

Se obtuvieron los resultados siguientes:

TABLA A

Digestión <i>in vitro</i> de pululano*						
% de pululano digerido						
Ingrediente	0 horas	0,5 horas	1 hora	2,5 horas	5 horas	15 horas
Pululano "crudo"	0,0	24,5	27,6	42,4	56,5	90,9
Pululano "cocinado"	0,1	31,5	31,8	44,3	50,5	86,9

*Porcentaje de almidón digerible, expresado como porcentaje del peso de los ingredientes, determinado mediante el método de Muir y O'Dea (sistema enzimático de α -amilasa y amiloglucosidasa, 1992); se ha demostrado que una incubación *in vitro* de 15 horas se correlaciona con la cantidad de almidón que escapa a la digestión en el intestino delgado (Muir y O'Dea, 1993). Los valores de tiempo 0 representan el porcentaje de glucosa libre en las muestras. Todos los valores son medias de muestras duplicadas.

Sorprendentemente, nosotros descubrimos que el pululano era digerible, en contraposición con la técnica anterior. De manera similar al almidón de maíz no cocinado, el pululano presentaba una velocidad lenta de digestión *in vitro*. Sin embargo, el pululano mantenía su baja velocidad de digestión *in vitro* después de cocinado, lo cual hace que el almidón de maíz sea digerido rápidamente.

ES 2 274 246 T3

Ejemplo II

Sobre la base de los sorprendentes datos descritos en el Ejemplo I, el experimento fue repetido con muestras adicionales de pululano de peso molecular variable. Se analizó también glucosa con fines comparativos. Los datos para el almidón de maíz, según están descritos en la literatura, están presentados a continuación.

TABLA B

Digestión de almidón <i>in vitro</i> (método descrito por Muir y O'Dea) del pululano*						
% de almidón digerido (base DM) tiempo de digestión del almidón						
Ingrediente	0 horas	0,5 horas	1 hora	2,5 horas	5 horas	15 horas
Glucosa	110,8	101,5	100,3	100,2	102,4	103,0
Glucosa, C	101,5	90,9	104,5	91,4	96,7	91,1
PF20	4,9	13,1	18,0	39,3	48,0	93,7
PF20, C	5,9	16,6	20,9	45,0	53,6	95,5
P120	1,2	13,1	17,3	41,7	53,6	103,0
P120, C	1,1	13,5	19,4	42,6	54,4	96,0

*Los valores son las medias de análisis duplicados. Porcentaje de almidón digerible, expresado como porcentaje de la materia seca de ingredientes, determinado por los métodos de Muir y O'Dea (sistema enzimático de α -amilasa y amiloglicosidasa; 1992); se ha demostrado que una incubación *in vitro* de 15 horas se correlaciona con la cantidad de almidón que escapa a la digestión en el intestino delgado (Muir y O'Dea, 1993). Los valores de tiempo 0 representan el porcentaje de glucosa libre en las muestras. C = cocinado. PF20 = pululano de grado alimentario, peso molecular de 200.000. P120 = pululano de grado farmacéutico, peso molecular de 200.000.

Se analizó glucosa como control y produjo el resultado esperado. Grados diferentes de pululano actuaban como un carbohidrato digerido lentamente.

Ejemplo III

Este ejemplo describe un trabajo adicional *in vitro* realizado con pululano.

TABLA C

Digestión de almidón <i>in vitro</i> (método descrito por Muir y O'Dea) del pululano*						
% de almidón digerido (base DM) tiempo de digestión del almidón						
Ingrediente	0 horas	0,5 horas	1 hora	2,5 horas	5 horas	15 horas
Almidón de maíz	0±0	30,4±0,9	30,1±0,3	55,2±1,8	62,4±1,2	78,4±0,3
Glucosa, C	95	97,8	100	102	108,3	108
PA, C	3,0	30,8	33,8	34,1	41,4	70,2
PB, C	2,3	27,2	25,8	31,5	54	59,8
PC, C	2,3	17,1	19,4	21,5	35	59,2
PF10, C	14	24,5	56,4	61,2	77,4	91,8

*Datos históricos del almidón de maíz crudo de Sigma. Porcentaje de almidón digerible, expresado como porcentaje de la materia seca de ingredientes, determinado por los métodos de Muir y O'Dea (sistema enzimático de α -amilasa y amiloglucosidasa; 1992); se ha demostrado que una incubación *in vitro* de 15 horas se correlaciona con la cantidad de almidón que escapa a la digestión en el intestino delgado (Muir y O'Dea, 1993). Los valores de tiempo 0 representan el porcentaje de glucosa libre en las muestras. C = cocinado. Los valores de la glucosa y el pululano son las medias de análisis por triplicado. PA = pululano, peso molecular de 6.010. PB = pululano, peso molecular de 13.900. PC = pululano, peso molecular de 49.200. PF = pululano de grado alimentario, peso molecular de 100.000.

Diferentes pesos moleculares de pululano fueron digeridos todos a una velocidad lenta y tendrían eficacia en un producto alimentario.

Ejemplo IV

El ejemplo siguiente ilustra la capacidad del pululano para funcionar como un carbohidrato digerido lentamente en un modelo animal de diabetes mellitus de tipo 2 (resistencia a insulina).

El objetivo de este experimento era comparar la respuesta glucémica postprandial de ratas obesas Zucker *fafa* machos alimentadas con pululano frente a maltodextrina. Veinte ratas obesas Zucker *fafa* machos fueron obtenidas con cinco semanas de edad en Harlan Sprague Dawley, Inc. (Indianapolis, IN). Las ratas fueron alojadas individualmente en jaulas colgantes de Naglene sobre un lecho seco (Sani-Chips, Harlan Teklad) y se les permitió acceso *ad libitum* al agua y al pienso para ratas (en pastillas; 8640 Harlan Teklad 22/5 Rodent Diet; Harlan Teklad, Madison, WI). Las dependencias de alojamiento fueron mantenidas a 19-23°C, 30-70% de humedad relativa y un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Las ratas fueron manipuladas de 4 a 5 veces por semana durante 3 semanas antes de este experimento con el fin de acostumbrarlas a la manipulación humana para el experimento. Además, las ratas fueron entrenadas para consumir oralmente una solución líquida de carbohidratos a través de una jeringa para el test de tolerancia a la comida. El protocolo de utilización de animales fue revisado y aprobado por el The Ohio State University Animal Care Committee.

El control del ensayo era un desafío con maltodextrina (Lodex® 15; Cerestar USA Inc., Hammond, IN) administrada a 0,9 g/kg de peso corporal. El Lodex® fue preparado en una solución al 25% (peso/volumen) con agua antes del desafío (volumen total 10 ml). De manera similar se preparó una solución de pululano (Sigma, St. Louis, MO) al 25% (peso/peso) (peso total 14 g). Ambos tratamientos fueron calentados en un microondas durante 30 segundos a alta potencia para solubilizar completamente las soluciones de carbohidratos 2 horas antes del ensayo.

Los dos tratamientos dietéticos fueron evaluados en un diseño paralelo (10 ratas por tratamiento). En el momento del ensayo las ratas pesaban $275 \pm 5,5$ g (media \pm ESM) y tenían 8 semanas de edad. Después de un ayuno durante

ES 2 274 246 T3

una noche de 16 horas, las ratas fueron sometidas a un ensayo de tolerancia a la comida. Se administró a las ratas aleatoriamente uno de los dos tratamientos dietéticos (1 ml) *per os*. Todas las ratas consumieron la dieta en un periodo de 10 minutos. Se recogieron muestras de sangre basales y 30, 60, 90, 120 y 180 minutos postprandial para el análisis de la glucosa (Precision G[®], Medisense, Bedford, MA). Las ratas tuvieron libre acceso al agua a lo largo de todo el experimento.

Las muestras de sangre fueron obtenidas de la vena de la cola y aproximadamente 5 μ l de sangre fueron transferidos inmediatamente de forma directa a una tira para analizar glucosa sanguínea Precision G[®] y se analizaron para determinar la concentración de glucosa sanguínea. Se utilizó sangre completa, sin embargo, el instrumento Precision G[®] corrige la medida de glucosa y proporciona los datos como mg de glucosa/dl de plasma.

Resultados

La respuesta glucémica postprandial de ratas obesas Zucker *falfa* machos a las que se administró maltodextrina o pululano puede encontrarse en la Figura 1, y el cambio incremental de la glucosa sanguínea desde la línea base puede encontrarse en la Figura 2. Los valores de glucosa sanguínea basal no eran diferentes (116 ± 5 versus 115 ± 5 mg/dl; maltodextrina versus pululano, respectivamente). El cambio incremental de la glucosa sanguínea desde la línea base estaba reducido en un 45% ($P < 0,01$) en las ratas que recibieron pululano a los 30 minutos postprandial (Figura 2). Se calculó el área bajo la curva (AUC) (Wolever y Jenkins, The use of glycemic index in predicting the blood glucose response to mixed meals. *Am. J. Clin. Nutr.* 1986, 43, 167-172) y se encontró que era menor ($P < 0,05$) en las ratas que recibieron pululano (AUC de 3 horas 4812 ± 581 frente a 2889 ± 486 , maltodextrina y pululano, respectivamente).

Ejemplo V

El objetivo primario era determinar la respuesta de glucemia postprandial de adultos sanos no diabéticos al pululano y la maltodextrina.

Treinta y seis sujetos adultos sanos que cumplían todos los criterios de elegibilidad fueron incluidos en el estudio. Veintiocho sujetos completaron el protocolo. El experimento siguió un diseño cruzado, doble ciego, de dos periodos, de dos tratamientos, con un mínimo de un lavado de cuatro días entre los tratamientos. Los sujetos volvieron en 14 días para un análisis repetido con el tratamiento cruzado apropiado. Los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente en números iguales a las secuencias del estudio utilizando asignaciones aleatorias generadas por ordenador.

Los sujetos que cumplían los criterios de elegibilidad fueron instruidos para que consumieran una dieta con alto contenido en carbohidratos (más de 150 g de carbohidratos por día) en cada uno de los tres días anteriores a cada ensayo. La ingestión de comida fue registrada en diarios dietéticos por cada sujeto con el fin de calcular el consumo de carbohidratos. La noche anterior al ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa, los sujetos consumieron una cena de bajo residuo que consistía en una lata de 8 fl oz (237 ml) de chocolate Ensure Plus[®] con barras Ensure Nutrition[®] and Energy Bars adicionales para proporcionar un tercio aproximadamente del requisito calórico diario individual de cada sujeto según se calculó mediante la ecuación de Harris-Benedict (Harris y Benedict, *A biometric study of basal metabolism in man*; Carnegie Institute, Washington, D.C., p. 227 (N^o de Publicación 279), 1919) multiplicado por un factor de actividad de 1,3. Los sujetos ayunaron durante la noche (de 10 a 16 horas) anterior al ensayo. Durante el ayuno, a los sujetos solamente se les permitió consumir agua. Fumar estaba prohibido. Los sujetos no practicaron ejercicio durante el periodo de 24 horas anterior al ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa.

La mañana siguiente al ayuno de una noche, los sujetos se presentaron en el laboratorio de análisis y se relajaron durante al menos 30 minutos antes de la recogida de una muestra de sangre basal. La sangre se obtuvo mediante la punción de un dedo (realizada por el propio sujeto a no ser que él lo requiriera de otro modo; utilizando una lanceta estéril) inmediatamente antes del ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa. Los sujetos consumieron posteriormente el producto de ensayo apropiado en un periodo de tiempo de 10 minutos y se obtuvieron muestras de sangre adicionales durante el ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa mediante punción en un dedo realizada por el propio individuo a los 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos postprandial en ± 5 minutos para cada punto de tiempo. La glucosa de sangre capilar fue medida utilizando un analizador YSI (Modelo YSI 2700 Select Biochemistry Analyzer, Yellow Springs Instruments, Yellow Springs, OH). Se calculó el área bajo la curva de glucosa incremental de acuerdo con Wolever y col. (The glycemic index: methodology and clinical implications. *Amer. J. Clin. Nutr.* 1991, 54, 846-854). Los sujetos registraron las medicaciones y los datos de tolerancia gastrointestinal subjetivos durante las 48 horas siguientes al ensayo.

Se tomaron registros sobre la dieta durante los tres días consecutivos anteriores a las visitas del estudio. Los sujetos registraron la cantidad y el tipo de todas las comidas y líquidos ingeridos durante este periodo de tiempo. El investigador o el coordinador revisó los registros sobre la dieta con cada sujeto después de la finalización de cada grupo de registros de la dieta correspondientes a 3 días con el fin de asegurar que: 1) se había registrado el cálculo más exacto de los tamaños de las raciones de cada una de las comidas y 2) se había registrado suficiente información para calcular la cantidad diaria de ingestión de carbohidratos durante el periodo de 3 días (> 150 gramos necesitados diariamente).

ES 2 274 246 T3

Los sujetos recibieron productos Ensure® comerciales para las cenas que precedían a la Visita 1 y a la Visita 2 en la visita anterior. Se preguntó a los sujetos sobre el cumplimiento de estas cenas, lo cual fue registrado en un impreso para informes de casos. En la Visita 1 y en la Visita 2 el personal del estudio fue testigo de la ingestión de los productos de estudio por cada sujeto durante el ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa. Los sujetos ingirieron el producto de estudio en su totalidad en un periodo de 10 minutos y el cumplimiento se registró en un impreso para informes de casos.

Los sujetos fueron reclutados de varias poblaciones, incluyendo sujetos de estudios previos y otros individuos de la población general. Los sujetos elegibles para su participación en el estudio tenían que satisfacer los criterios siguientes. Los criterios de elegibilidad para la inclusión en el estudio comprendían: el sujeto debe tener 18-75 años de edad; es varón o mujer no embarazada al menos seis semanas después del parto y no lactante; no está recibiendo actualmente anticonceptivos orales ni terapia de sustitución hormonal oral; tiene un índice de masa corporal (BMI) de 20-28 kg/m²; el sujeto no tiene diabetes mellitus ni intolerancia a la glucosa (glucosa de sangre capilar en el cribado < 110 mg/dl); no tiene enfermedades metabólicas activas ni gastrointestinales que puedan interferir con la absorción, distribución, metabolismo o excreción de nutrientes y no tiene alergias alimentarias; no ha tenido una infección (requiriendo medicación u hospitalización), cirugía o tratamiento con corticoesteroides en los últimos 3 meses o con antibióticos en las 3 últimas semanas; no está tomando medicaciones diarias (por ejemplo, acetaminofeno, salicilatos, diuréticos, etc.) que pudieran interferir con la absorción, metabolismo, excreción de los nutrientes o con la motilidad gástrica; no fuma y ha firmado voluntariamente y fechado personalmente un impreso de consentimiento informado antes de la participación en el estudio.

Después de cumplir los criterios de inclusión y de recibir el consentimiento del sujeto o del representante del sujeto legalmente aceptable antes de la participación en el estudio, se llevaron a cabo las asignaciones de tratamientos mediante la utilización de un plan de aleatorización generado prospectivamente. Los sujetos recibieron ambos productos de estudio en un orden aleatorizado. Los sujetos deben haber consumido al menos 150 g de carbohidratos por día durante los 3 días anteriores a, deben haber consumido su cena de bajo residuo la noche antes de, deben haberse abstenido de practicar ejercicio durante el periodo de 24 horas anterior a, y deben haber ayunado durante 10 a 16 horas antes de, el ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa. Si el sujeto no había seguido estas instrucciones antes del ensayo, él/ella regresaron para otra fecha de estudio. El personal del estudio fue responsable de asignar y dispensar el producto de estudio.

Los sujetos recibieron ambos productos en un orden aleatorizado. Los dos tratamientos evaluados en este experimento fueron: 1) maltodextrina y 2) pululano. La maltodextrina es un almidón de maíz parcialmente hidrolizado que es un ingrediente común en muchos alimentos procesados y es reconocido de manera general como seguro (GRAS; 21 CFR 184. 1444). El pululano es un ingrediente alimentario similar al almidón que ha sido utilizado como goma dietética, sirviendo como texturizante para el tofu, el jamón y las salchichas, como sustrato para aromas y como un medio para proteger los aromas a través de microencapsulación, y como película alimentaria (Kimoto y col., Safety studies of a novel starch, pullulan: chronic toxicity in rats and bacterial mutagenicity. *Food and Chemical Toxicology* 1997, 35, 323-329). Estos carbohidratos fueron incorporados a bebidas similares a zumos (~25 g por cada 250 ml) y aromatizadas para incrementar la palatabilidad. En las tablas siguientes puede encontrarse una descripción detallada de los perfiles nutricionales de los productos.

TABLA D

Composición de los Productos de Estudio

	Control	Ensayo
	Unidades por ración de 8 fl oz	
Maltodextrina, g	25	0
Pululano, g	0	25
Sodio, mg	27	27
Potasio, mg	47	47
Cloruro, mg	42	42
Vitamina C, mg	60	60

Los sujetos consumieron raciones de 2-8 fl oz de producto en cada ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa que proporcionaban un total de 50 g de carbohidratos.

ES 2 274 246 T3

TABLA E

Listado de Ingredientes

	Control	Ensayo
	Unidades por lote	
Cloruro de sodio, g	200	200
Citrato de potasio, g	400	400
Citrato de sodio, g	10	10
Ácido ascórbico, g	1000	1000
Pululano PF-10, lb	0	65
Maltrina M 100, lb	65	0
Agua, lb	540	540
Bayas silvestres artificiales, lb	1,2	1,2
Canela natural, g	110	110
FD&C Rojo #3, g	52	52
FD&C Azul #1, g	3	3
Polvo de sucralosa, g	68	68

El estudio constaba de dos días de tratamiento (Visita 1 y Visita 2) con un periodo de lavado mínimo de cuatro días entre las mismas y óptimamente un máximo de 14 días entre las visitas del estudio. Para cada ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa, los sujetos consumían dos raciones (~8 fl oz/ración) del producto de estudio que proporcionaban 50 g de carbohidratos. Los productos de estudio fueron consumidos a una hora similar cada día durante cada visita de tratamiento.

Éste fue un estudio cruzado, aleatorizado, doble ciego, de dos periodos, de dos tratamientos, realizado en un único lugar. Al menos 26 sujetos (13 en cada secuencia de tratamiento) fueron distribuidos aleatoriamente para obtener un conjunto completo (periodos 1 y 2) de valores de la variable principal para 26 sujetos. Los análisis estadísticos y los resúmenes se realizaron sobre los datos de los sujetos evaluables y con la intención de tratar los datos (datos secundarios: todos los sujetos aleatorizados). Los datos que faltaban no fueron imputados y cualquier sujeto al que le faltaran datos para una variable en uno o más periodos no fue incluido en el análisis de esa variable. No hubo análisis intermedios.

Se llevaron a cabo las dos etapas siguientes para cada análisis cruzado de dos periodos: En primer lugar un análisis del efecto de la secuencia: a) comparación de las secuencias de los dos tratamientos para los valores, la suma de dos periodos, utilizando un test t de dos lados o (en el caso de que la distribución no fuera normal) el test de la Suma de Rangos de Wilcoxon de dos lados. En segundo lugar un análisis del efecto del tratamiento: a) si el efecto de la secuencia no es significativo ($p \geq 0,10$) se comparan posteriormente las secuencias de los dos tratamientos para los valores, la diferencia de dos periodos, mediante el test t de dos lados o (si la distribución no es normal) mediante el test de la Suma de Rangos de Wilcoxon de dos lados, b) si el efecto de la secuencia es significativo ($p < 0,10$) se comparan posteriormente los dos tratamientos utilizando únicamente los datos del primer periodo mediante el test t de dos lados o (si la distribución no es normal) mediante el test de la Suma de Rangos de Wilcoxon de dos lados.

Se consideró que un resultado (excepto para el efecto de la secuencia) era estadísticamente significativo si, y sólo si, el valor de p de un análisis era menor de 0,05.

Resultados

La respuesta de glucemia postprandial de los sujetos sanos que recibieron maltodextrina (control) o pululano puede encontrarse en la Figura 4. El pululano producía un aumento de la glucosa sanguínea por encima de los niveles basales (en ayunas) a lo largo del periodo postprandial de 3 horas. Si el pululano fuera resistente a la digestión, como había sido clasificado por la técnica anterior, no se esperaría un aumento postprandial de la glucosa sanguínea. Como ejemplo, la Figura 3 muestra los cambios mínimos de la concentración de glucosa sanguínea postprandial de sujetos diabéticos que ingirieron el polisacárido indigerible polidextrosa.

ES 2 274 246 T3

El pululano fue digerido lentamente a lo largo del ensayo de tolerancia a la ingestión de glucosa de 3 horas según estaba indicado por una excursión de fase temprana reducida y posteriormente un mantenimiento de la excursión de fase tardía en comparación con maltodextrina, un almidón rápidamente digerido. El área bajo la curva incremental de glucosa era menor ($p < 0,01$) para los sujetos que tomaron pululano ($268 \pm 15,6$ frente a $135 \pm 11,6$ mmoles \cdot minuto/l, maltodextrina y pululano, respectivamente).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Utilización de pululano para la fabricación de un medicamento para producir una respuesta glucémica amortiguada en un paciente diabético mediante la administración a dicho paciente diabético de una cantidad suficiente de pululano, donde dicho pululano está contenido en un producto sustitutivo de las comidas, conteniendo además dicho producto sustitutivo de las comidas vitaminas, minerales, una fuente de proteínas que proporciona del 10 al 35% de las calorías totales, una fuente de grasa que proporciona del 10 al 50% de las calorías totales y un sistema de carbohidratos que proporciona del 25 al 80% de las calorías totales, proporcionando dicho pululano del 10 al 50% de las calorías totales de los carbohidratos.

10 2. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho producto sustitutivo de las comidas contiene:

15 a) una fuente de proteínas que proporciona del 10 al 35% de las calorías totales;

b) una fuente de grasas que proporciona del 10 al 50% de las calorías totales; y

c) un sistema de carbohidratos que proporciona del 25 al 80% de las calorías totales;

20 y minerales y vitaminas.

3. La utilización de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho producto sustitutivo de las comidas es una barrita o una bebida.

25 4. Un producto sustitutivo de las comidas que comprende:

una fuente de proteínas que proporciona del 10 al 35% de las calorías totales;

una fuente de grasas que proporciona del 10 al 50% de las calorías totales; y

30 un sistema de carbohidratos que proporciona del 25 al 80% de las calorías totales, en el cual dicho pululano proporciona del 10 al 50% de las calorías totales de los carbohidratos,

minerales y vitaminas.

35 5. El producto sustitutivo de las comidas de acuerdo con la reivindicación 4, donde dicho producto sustitutivo de las comidas es una barrita o una bebida.

40

45

50

55

60

65

Respuesta glucémica de Pululano frente a Maltodextrina

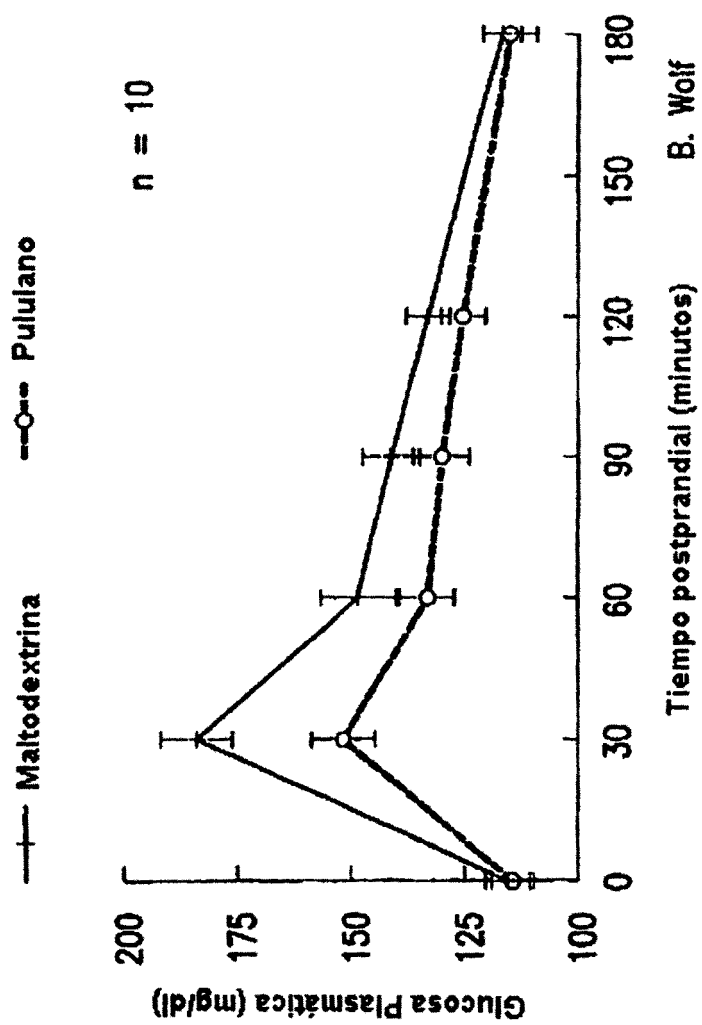


FIG.1

Cambio incremental de la glucosa plasmática a partir de la línea basal

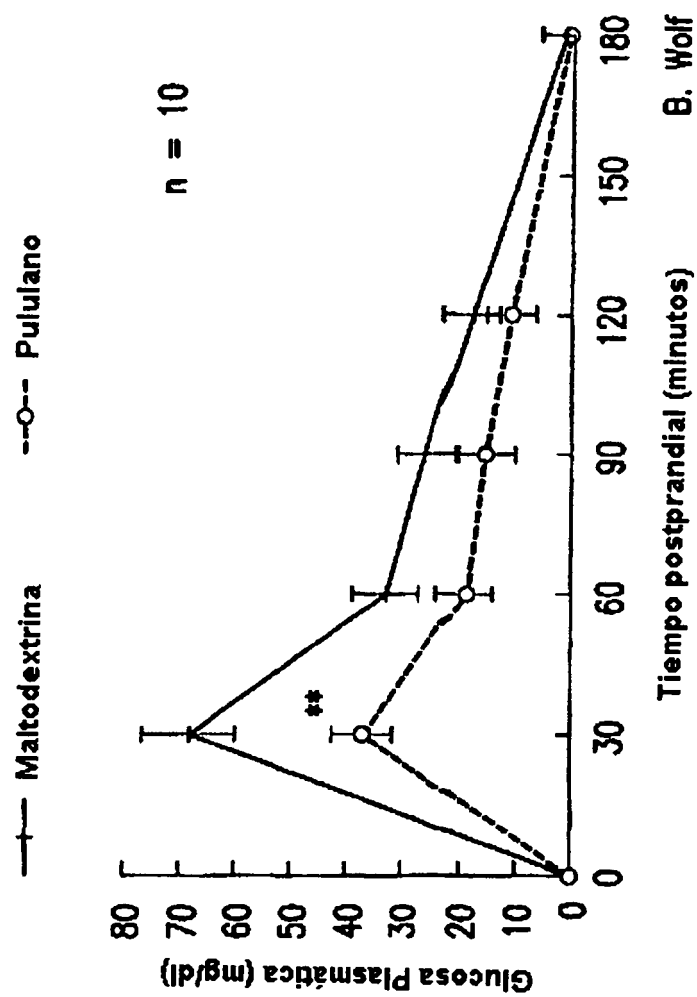


FIG.2

Respuesta glucémica postprandial en diabéticos de tipo 2
 (Datos de la Food Additive Petition de Pfizer de 1978)

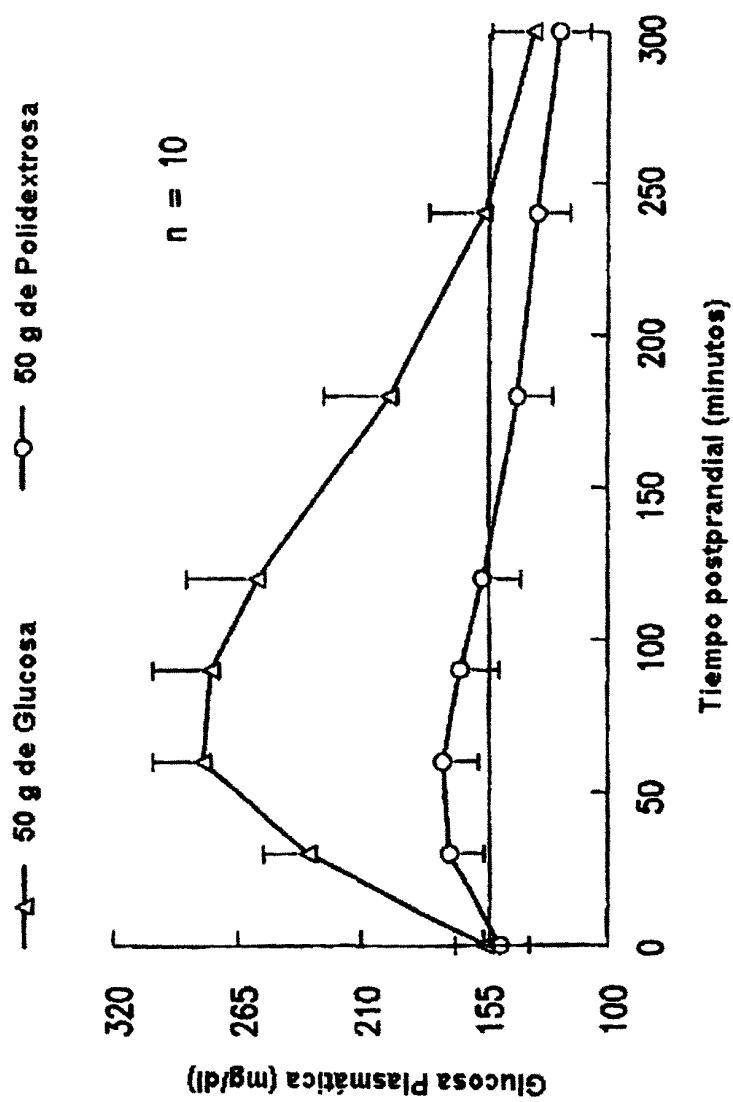
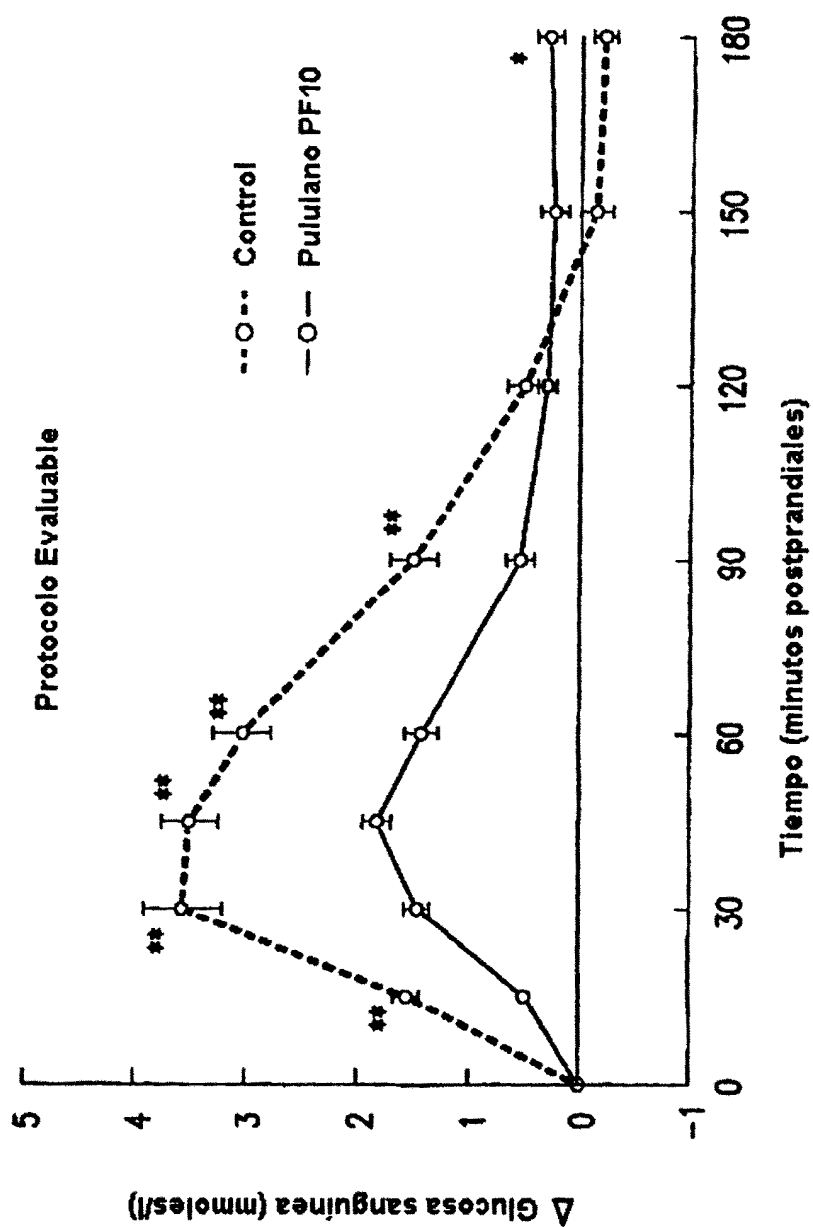


FIG.3



Los valores representan la media ± ESM, n = 28. *p < 0,05, **p < 0,01

FIG.4