

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 966 935**

51 Int. Cl.:

A61K 35/747 (2015.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.06.2019 PCT/EP2019/065590**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.12.2019 WO19243169**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.06.2019 E 19733414 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2023 EP 3806876**

54 Título: **Composiciones de lactobacillus plantarum y sus usos**

30 Prioridad:
18.06.2018 WO PCT/EP2018/066154

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.04.2024

73 Titular/es:
**PROBI AB (100.0%)
Ideongatan 1A
223 70 Lund, SE**

72 Inventor/es:
JEPPSSON, BENGT

74 Agente/Representante:
GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 966 935 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).

DESCRIPTION

Composiciones de *Lactobacillus plantarum* y sus usos

Campo técnico de la invención

5 La presente invención se refiere a al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso en el tratamiento y/o prevención de una inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano. La presente invención también se refiere a sus composiciones farmacéuticas.

Antecedentes de la invención

10 El proceso de envejecimiento humano afecta a casi todos los órganos del cuerpo, con una disminución gradual de sus funciones. El envejecimiento se asocia a niveles más elevados de inflamación sistémica de bajo grado que no repercute directamente en la vida cotidiana de los ancianos, pero podría aumentar el riesgo de padecer otras enfermedades, tal como enfermedades cardiovasculares, la resistencia a la insulina y la diabetes, la osteoporosis, la disminución de la función cognitiva y la demencia, y diversos tipos de cáncer, y provoca un aumento de la mortalidad. La inflamación sistémica de bajo grado relacionada con la edad, también conocida como "inflamación-envejecimiento" (Franceschi *et al*, 2000, *Ann N Y Acad Sci* 908:244-254) suele caracterizarse por niveles elevados de proteína C reactiva (PCR) y citocinas proinflamatorias, como la interleucina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), y niveles reducidos de citocinas antiinflamatorias, como la interleucina 10 (IL-10) (Bartlett *et al*, 2012, *Aging Cell* 11:912-915).

No se conocen las causas de las alteraciones anteriores, ni existe un tratamiento eficaz o prevención de la inflamación sistémica relacionada con la edad conocidos en la técnica.

20 Jin-Ju Jeong *et al*, PLOS one, vol. 10, no. 2, e0116533, 17-02-2015; desvela el efecto antiinflamatorio de *Lactobacillus pentosus* var. *plantarum* C29 en ratas F344 envejecidas y la mejora de la colitis dependiente de la edad.

Inesperadamente, el inventor ha demostrado que la administración de una especie específica de bacterias probióticas, *Lactobacillus plantarum*, tiene efectos notables sobre la inflamación sistémica relacionada con la edad en personas mayores por lo demás sanas.

25 **Descripción de la invención**

De acuerdo con un primer aspecto, la invención proporciona al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con la reivindicación 1 para uso en el tratamiento y/o prevención de una inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano.

Inflamación sistémica relacionada con la edad

30 Por "inflamación sistémica" se incluye la inflamación sistémica, que suele ser el resultado de la liberación de citocinas proinflamatorias de las células relacionadas con el sistema inmunitario y de la activación del sistema inmunitario innato. En particular, se incluye el significado de inflamación sistémica *crónica*, que suele darse cuando la activación del sistema inmunitario innato persiste más allá de una fase aguda inicial y se convierte en "crónica".

35 Por "inflamación sistémica *relacionada con la edad*" se entiende que la inflamación sistémica es crónica y está asociada al proceso de envejecimiento. Por lo tanto, la inflamación sistémica relacionada con la edad no incluye la inflamación sistémica aguda causada por un único traumatismo (por ejemplo, mordedura de serpiente, quemaduras, infarto de miocardio o infecciones como la neumonía). Por lo general, la inflamación sistémica relacionada con la edad puede estar presente en individuos por lo demás sanos, especialmente en los ancianos.

40 Por lo tanto, la inflamación sistémica está indicada por marcadores en la sangre y es diferente de la inflamación local que se produce en los tejidos/órganos del cuerpo.

45 Consideramos que la inflamación sistémica relacionada con la edad puede contribuir al desarrollo o la progresión de otras afecciones, tal como las enfermedades cardiovasculares, la resistencia a la insulina y la diabetes, la osteoporosis, la disminución de la función cognitiva y la demencia, así como diversos tipos de cáncer. Por ejemplo, actualmente se acepta científicamente que los niveles séricos de PCR superiores a 3 mg/l se asocian con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular.

En general, la inflamación sistémica puede clasificarse como "inflamación sistémica de bajo grado" cuando los marcadores de inflamación, principalmente la PCR, no pueden atribuirse a una infección vírica o bacteriana.

En los ejemplos a continuación, se utilizaron niveles séricos de PCR de 2-10 mg/L para definir el grupo de pacientes con inflamación sistémica de bajo grado que se iban a tratar de acuerdo con la invención.

50

Tratamiento y prevención

Por "uso en el tratamiento y/o prevención" se incluye un uso que produce un efecto en un individuo de prevención, retraso, protección, reducción de la gravedad y/o eliminación de uno o más síntomas y/u otros marcadores asociados a una enfermedad o afección.

5 Por "tratar", "tratamiento" o "tratando" se incluye mejorar, reducir la gravedad, eliminar, impedir que se produzca, proteger contra una nueva aparición, retrasar o hacer cesar el acontecimiento o la afección tratados. Este tratamiento suele tener lugar después de que se haya producido el suceso (o el mismo tipo de suceso) o se haya manifestado la afección. También se apreciará que dichos términos pueden incluir el significado de que un evento o afección se mantiene en el estado actual sin empeorar o desarrollarse más.

10 Por "prevenir", "prevención" o "previniendo" se incluye proteger, retrasar, reducir (por ejemplo, reducir la gravedad), impedir que se produzca o hacer que cese el suceso o afección que se pretende evitar. Dicha prevención suele tener lugar antes de que se produzca el suceso o se manifieste la afección, pero se apreciará que también puede significar evitar que vuelva a producirse el mismo tipo de suceso. También se apreciará que dichos términos pueden incluir el significado de que un evento o condición se mantiene en el estado actual sin empeorar o desarrollarse más.

15 Por ejemplo, un síntoma de inflamación sistémica relacionada con la edad tras la administración de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede mejorarse en al menos un 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o al menos 99% en comparación con sin la administración de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum*.

20 Por ejemplo, el tratamiento y/o prevención de la inflamación sistémica relacionada con la edad puede implicar la reducción y/o prevención de un aumento del nivel de proteína C reactiva (GRP) y/o puede implicar la reducción y/o prevención de un aumento del nivel de calprotectina.

Proteína C reactiva y calprotectina

25 La proteína C reactiva (PCR) es una proteína de fase aguda producida por el hígado que aumenta tras la secreción de interleucina 6 por macrófagos y células T. De ahí que el nivel de PCR en el plasma sanguíneo aumente en respuesta a la presencia de inflamación en el organismo. La función fisiológica de la PCR es unirse a la lisofosfatidilcolina expresada en la superficie de las células muertas o moribundas (y algunos tipos de bacterias) para activar el sistema del complemento a través de C1q.

30 El nivel de PCR puede medirse por cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica. La PCR suele medirse mediante un análisis de sangre rutinario para determinar la concentración de PCR en el plasma sanguíneo, por ejemplo utilizando anticuerpos específicos contra la PCR. Entre los ejemplos de pruebas para medir la PCR se incluyen las descritas en Dominici et al (2004) *J Clin Lab Anal* 18(5):280-284, los ensayos inmunocromatográficos y las pruebas ELISA, por ejemplo, el ensayo Eurolyser CRP que utiliza la determinación cinética fotométrica de la reacción entre la PCR plasmática y un anticuerpo anti-CRP inmovilizado. También puede utilizarse una prueba de proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCR-as). (Pearson et al, 2003, *Circulation* 107(3):499-511), como es habitual para determinar el riesgo de cardiopatía.

35 Los adultos sanos suelen tener un nivel sérico de PCR de hasta 10 mg/L (Shine et al, 1981, *Clin Chim Acta* 117(1):13-23), y en un estudio el 90% de 468 voluntarios adultos sanos tenían un nivel sérico de PCR inferior a 3 mg/L (Shine et al 1981, *Clin Chim Acta* 117(1):13-23). Un nivel de PCR superior a 10 mg/L, a menudo muy superior, típicamente es un signo de infección grave, traumatismo o enfermedad crónica.

40 Los individuos con inflamación sistémica relacionada con la edad suelen tener un nivel sérico de PCR de 2 a 10 mg/L, por ejemplo de 2 a 10 mg/L, de 3 a 10 mg/L, de 4 a 10 mg/L, de 5 a 10 mg/L, de 6 a 10 mg/L, de 7 a 10 mg/L, de 8 a 10 mg/L, de 9 a 10 mg/L, de 2 a 3 mg/L, de 2 a 4 mg/L, de 2 a 5 mg/L, de 2 a 6 mg/L, de 2 a 7 mg/L, de 2 a 8 mg/L o de 2 a 9 mg/L. Se puede considerar que los individuos con un nivel de PCR sérica inferior a 2 mg/l no presentan inflamación sistémica.

45 Por lo tanto, se apreciará que el nivel de PCR en el suero de un individuo/paciente tras la administración de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede mejorarse en al menos 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o al menos 99% en comparación con el nivel de PCR sin la administración de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum*.

50 La calprotectina es una proteína liberada en el lumen intestinal por los neutrófilos en respuesta a la inflamación del tracto gastrointestinal. Los neutrófilos migran a la mucosa intestinal durante la inflamación intestinal. La concentración de calprotectina en muestras fecales aumenta en respuesta a la presencia de inflamación en el tracto gastrointestinal, incluso en personas con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) (por ejemplo, colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn) o algunas infecciones bacterianas del tracto gastrointestinal. Específicamente, la calprotectina puede utilizarse para ayudar a distinguir entre afecciones intestinales inflamatorias (por ejemplo, la EII) y afecciones intestinales no inflamatorias (por ejemplo, el síndrome del intestino irritable).

El nivel de calprotectina puede medirse por cualquier procedimiento adecuado conocido en la técnica.

La calprotectina suele medirse en muestras fecales para determinar su concentración, por ejemplo utilizando anticuerpos específicos de la calprotectina. Entre los ejemplos de pruebas para medir la calprotectina se incluyen las descritas en Acevedo *et al* (2018) *J Clin Med Res* 10(5):396-404, ensayos inmunocromatográficos y pruebas ELISA, por ejemplo BUHLMANN fCAL® ELISA (Buhlmann), Quantum Blue® fCAL (Buhlmann) o CalFast® (Eurospital).

Un nivel de calprotectina fecal de hasta 110 ug/g de heces suele considerarse normal. Un nivel de calprotectina fecal entre 110 y 1800 ug/g de heces suele considerarse "elevado" e indicativo de inflamación. Sin embargo, un nivel ligeramente elevado de calprotectina fecal por encima de 110 ug/g de heces puede seguir siendo normal.

Por lo tanto, se apreciará que el nivel de calprotectina tras la administración de la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede mejorarse en al menos 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o al menos 99% en comparación con el nivel de calprotectina sin la administración de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum*.

Cepas probióticas

Las bacterias probióticas se definen como "microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped" ("live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host") (Hill *et al*, *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 11(8):506-514). Las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las más utilizadas en los productos probióticos. Estas bacterias suelen ser seguras, al igual que los productos probióticos basados en estos organismos. Para que una bacteria cumpla la definición de probiótico, debe ser capaz de sobrevivir en el intestino y colonizarlo, sobrevivir a los procesos de producción y almacenamiento y demostrar que tiene efectos positivos en la salud del consumidor.

La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención se selecciona de *Lactobacillus plantarum* HEAL 9 (DSM 15312), *Lactobacillus plantarum* HEAL 19 (DSM 15313), *Lactobacillus plantarum* HEAL 99 (DSM 15316).

Más preferentemente, la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención es *Lactobacillus plantarum* HEAL 9 (DSM 15312).

Lactobacillus plantarum HEAL 9, DSM 15312, *Lactobacillus plantarum* HEAL 19, DSM 15313, y *Lactobacillus plantarum* HEAL 99, DSM 15316 fueron depositados el 27 de noviembre de 2002 en DSMZ-DEUTSGHE SAMMLUNG VON MIKROORGANISMEN UND ZELLKULTUREN GmbH, Mascheroder Weg 1b, D-38124 Braunschweig, Alemania, por ProbiAB.

Las composiciones de la presente invención pueden comprender una o más cepas probióticas especificadas de *Lactobacillus plantarum*, pero preferentemente consisten en una o más cepas probióticas especificadas sin otra cantidad eficaz de cualquier otra cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus* y/o *Bifidobacterium* u otros microorganismos.

Las cepas probióticas de acuerdo con el primer aspecto de la invención pueden ser viables, estar atenuadas, inactivadas, o muertas. Preferentemente, las cepas probióticas son viables. Por ejemplo, preferentemente las cepas probióticas están liofilizadas.

Grupo de pacientes

La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* de acuerdo con el primer aspecto de la invención debe ser adecuada para su uso en un ser humano. Por ejemplo, el ser humano puede tener más de 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 o 90 años.

Preferentemente, la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* es para uso en personas de edad avanzada, por ejemplo un ser humano de más de 70, 75, 80, 85 o 90 años.

La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* puede ser para uso en un hombre.

La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* puede ser para uso en una mujer, incluyendo una mujer posmenopáusica. La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* puede ser para uso en una mujer desde el comienzo de la menopausia. La al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* puede utilizarse en una mujer hasta 10 años después del comienzo de la menopausia, por ejemplo, hasta 6 años, 7 años, 8 años, 9 años o 10 años después del comienzo de la menopausia.

La menopausia es el momento de la vida de la mayoría de las mujeres en que los periodos menstruales cesan definitivamente y ya no pueden tener hijos. La menopausia suele producirse entre los 49 y los 52 años. Los profesionales médicos suelen definir la menopausia como el momento en que una mujer no ha tenido ningún sangrado vaginal durante un año. Por ello, la fecha de la menopausia propiamente dicha suele determinarse con carácter

retroactivo, una vez transcurridos 12 meses desde la última aparición de sangre menstrual.

Composiciones

5 La al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede estar presente en una composición que comprende al menos un portador adecuado. Por ejemplo, el portador puede ser un diluyente o un excipiente. La composición puede presentarse como una formulación sólida o líquida y, por lo tanto, el al menos un portador puede ser un sólido o un líquido, o puede comprender tanto al menos un componente sólido como al menos un componente líquido.

10 Algunos ejemplos de portadores líquidos adecuados incluyen el agua, la leche, el agua de coco, las bebidas y zumos de frutas, los sustitutos de la leche (bebida de soja, bebida de avena, bebida de frutos secos y otras bebidas vegetales), las bebidas con gas, la glicerina, el propilenglicol y otros disolventes acuosos.

15 Entre los ejemplos de portadores sólidos o excipientes adecuados se incluyen la maltodextrina, la inulina, una celulosa como la celulosa microcristalina (MCC), la hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) o la hidroxipropilcelulosa (HPC), alcoholes de azúcar, polietilenglicoles de alto peso molecular, lactosa, citrato sódico, carbonato cálcico, fosfato cálcico dibásico y glicina, desintegrantes como almidón (preferentemente de maíz, patata, tapioca u otro almidón vegetal), almidón glicolato sódico, croscarmelosa sódica y determinados silicatos complejos, y aglutinantes de granulación como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y acacia. Además, pueden incluirse agentes lubricantes como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco.

En una realización de acuerdo con el primer aspecto de la invención, el portador puede seleccionarse entre un portador aceptable para uso farmacéutico, un excipiente aceptable para uso farmacéutico, un diluyente, y un alimento.

20 Entre los ejemplos de portadores, excipientes y diluyentes aceptables para uso farmacéutico se incluyen los bien conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo, los descritos en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª ed., vol. 1 y 2 (ed. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company).

25 Por "alimento" se incluye cualquier sustancia destinada al consumo para proporcionar beneficios nutricionales o apoyo a un organismo. Algunos ejemplos de portadores alimentarios adecuados son las bebidas (por ejemplo, zumos), los productos lácteos (por ejemplo, yogures, queso, helados, preparados para lactantes y productos para untar como la margarina), los productos alternativos a los lácteos (por ejemplo, bebidas, yogures y productos para untar a base de soja, frutos secos u otras plantas), los productos a base de cereales (por ejemplo, panes, galletas, cereales de desayuno, pasta y barritas de alimentos secos como las barritas saludables) y los alimentos para bebés (por ejemplo, purés de frutas y/o verduras).

30 La composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede ser una composición seca no fermentada, una composición fermentada o una composición seca fermentada. En este contexto, la fermentación incluye especialmente la fermentación láctica por bacterias lácticas en condiciones anaeróbicas. En el caso de una composición seca, no fermentada, prácticamente no se produce fermentación antes de la ingestión por un individuo, por lo que la fermentación sólo tiene lugar en el tracto gastrointestinal tras la ingestión de la composición por un individuo.

Por lo tanto, en algunas realizaciones de acuerdo con el primer aspecto de la invención, la composición se presenta en forma de un alimento en el que el alimento es un producto a base de cereales, un producto lácteo, un zumo o un alimento fermentado.

40 Algunos ejemplos de alimentos fermentados son los productos lácteos fermentados (como el yogur, el kéfir o el lassi), las alternativas lácteas fermentadas sin leche (como el kéfir de leche de coco), los productos fermentados a base de cereales (como la avena, los copos de avena, el maíz, el sorgo o el trigo), las verduras fermentadas (como el chucrut, el kimchi o los encurtidos), las legumbres o la soja fermentadas (como el natto o el tempeh) y el té fermentado (como el kombucha).

45 En algunas realizaciones de acuerdo con el primer aspecto de la invención, la al menos una cepa probiótica está presente en una composición que no es natural, por ejemplo, la composición comprende más de la cepa probiótica y agua.

50 En uso, la al menos una cepa probiótica o la composición que comprende la al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede mezclarse con un portador líquido o sólido antes de su administración a un mamífero. Por ejemplo, un individuo puede mezclar la al menos una cepa probiótica o la composición de la misma con un portador que comprende uno o más líquidos seleccionados de agua, leche, agua de coco, bebidas y zumos de frutas, sustitutos de la leche (bebida de soja, bebida de avena, bebida de frutos secos y otras bebidas vegetales), bebidas espumosas o algún otro disolvente o bebida acuosa antes de la ingesta. De manera similar, la al menos una cepa probiótica o su composición pueden mezclarse con un portador consistente en uno o más alimentos. Los portadores alimentarios adecuados incluyen el portador de avena, el portador de cebada, productos lácteos fermentados o no fermentados como yogures, helados, batidos, zumos de frutas, bebidas, sopas, panes, galletas, pasta, cereales de desayuno, barritas de alimentos secos, incluidas las barritas saludables, alimentos vegetales como

productos de soja, cremas para untar, alimentos para bebés, productos para nutrición infantil, preparados para lactantes o sustitutos de la leche materna desde el nacimiento.

Preferentemente, la formulación es una dosis unitaria que contiene una dosis o unidad diaria, subdosis diaria o una fracción apropiada de la misma, de la composición que comprende las cepas probióticas.

- 5 La composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede ser un suplemento dietético. Por "suplemento dietético" se incluye un producto fabricado destinado a complementar la dieta cuando se toma por vía oral, por ejemplo, en forma de píldora, cápsula, comprimido o líquido. Los complementos alimenticios pueden contener sustancias que son esenciales para la vida y/o aquellas que no se ha confirmado que sean esenciales para la vida pero que pueden tener un efecto biológico beneficioso. Cuando la composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención está en la forma de un suplemento dietético los portadores que se añadirán incluyen aquellos bien conocidos por una persona con experiencia en la técnica, por ejemplo los dados en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19^a ed., vol. 1 y 2 (ed. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company). Cualquier otro ingrediente que se utilice normalmente en suplementos dietéticos es conocido por un experto en la técnica y también puede añadirse convencionalmente junto con la al menos una cepa probiótica.
- 10
- 15 La composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede suministrarse en forma de solución, suspensión, emulsión, comprimido, gránulo, polvo, cápsula, pastilla para chupar, goma de mascar, o supositorio.

En una realización de acuerdo con el primer aspecto de la invención, la al menos una cepa probiótica está presente (por ejemplo, en una composición) en una cantidad de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{14} UFC/dosis, preferentemente de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{12} UFC/dosis, más preferentemente de aproximadamente 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{11} UFC/dosis, y más preferentemente de aproximadamente 1×10^{10} UFC/dosis. Si la al menos una cepa probiótica consiste en más de una cepa probiótica, dichas cantidades representan el total de UFC/dosis de la combinación de cepas probióticas. Por ejemplo, la al menos una cepa probiótica puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} o aproximadamente 1×10^{13} UFC/dosis. La al menos una cepa probiótica puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 1×10^{14} , 1×10^{13} , 1×10^{12} , 1×10^{11} , 1×10^{10} , 1×10^9 , 1×10^8 o aproximadamente 1×10^7 UFC/dosis. La al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención también puede utilizarse sola en agua o cualquier otro vehículo acuoso en el que se añade o mezcla la al menos una cepa probiótica antes de su ingestión.

20

25

La composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede administrarse por vía oral, bucal o sublingual en forma de comprimidos, cápsulas, polvos, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de liberación inmediata, retardada o controlada. La composición puede administrarse en forma de composición en polvo, como una composición microbiana de fusión rápida, por ejemplo las descritas en el documento WO 2017/060477 y en la solicitud de patente 1708932.7 del Reino Unido.

30

La composición de acuerdo con el primer aspecto de la invención puede formularse como una forma de dosificación sólida de liberación controlada, por ejemplo cualquiera de las descritas en el documento WO 03/026687 y en las Patentes de los Estados Unidos Núm. 8.007.777 y 8,540 980.

35

La composición puede formularse como una forma de dosificación estratificada, por ejemplo, cualquiera de las descritas en el documento WO 2016/003870.

Un comprimido puede fabricarse por compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos pueden prepararse por compresión en una máquina adecuada de al menos una cepa probiótica (por ejemplo, liofilizada) en forma fluida, como polvo o gránulos, mezclada opcionalmente con un aglutinante (p. ej., povidona, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, desintegrante (p. ej., almidón glicolato sódico, los comprimidos moldeados pueden fabricarse por moldeo en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente revestidos o ranurados y pueden formularse de forma que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo en su interior utilizando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado.

40

45

Composiciones farmacéuticas

Un segundo aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención, y uno o más excipientes aceptables para uso farmacéutico, para uso en el tratamiento y/o prevención de una inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano.

50

La composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto de la invención puede ser una composición como la descrita anteriormente con respecto al primer aspecto de la invención. El término "aceptable para uso farmacéutico" incluye que el uno o más excipientes no deben ser deletéreos para sus receptores y deben ser compatibles con la al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención. Los ejemplos de tales excipientes aceptables para uso farmacéutico son bien conocidos en la técnica e incluyen los descritos anteriormente con respecto al primer aspecto de la invención, por ejemplo los descritos en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19^a

55

ed., vol. 1 y 2 (ed. Gennaro, 1995, Mack Publishing Company).

Por ejemplo, la composición farmacéutica puede formularse como una forma farmacéutica sólida de liberación controlada, por ejemplo, cualquiera de las descritas en el documento WO 03/026687 y en las Patentes de los Estados Unidos Núm.: 8.007.777 y 8.540.980, o la composición farmacéutica puede formularse como una forma farmacéutica estratificada, por ejemplo, cualquiera de las descritas en el documento WO 2016/003870.

Los uno o más excipientes aceptables para uso farmacéutico pueden ser agua o solución salina que será estéril y libre de pirógenos.

Preferentemente, la composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto de la invención puede administrarse por cualquier procedimiento convencional, incluida la alimentación oral y por sonda. La administración puede consistir en una dosis única o en una pluralidad de dosis a lo largo de un periodo de tiempo.

Uso en tratamiento y/o prevención

Otro aspecto de la invención proporciona un uso en el tratamiento y/o prevención de la inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano, que comprende administrar a un ser humano que lo necesite una cantidad eficaz para uso terapéutico de la al menos una cepa probiótica de acuerdo con el primer aspecto de la invención- o la composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

En particular, la prevención de una inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano se indica mediante la reducción de los niveles séricos de uno o más marcadores de inflamación sistémica relacionada con la edad en comparación con no haber administrado dichas cepas probióticas.

El tratamiento puede llevarse a cabo en cualquier ser humano definido anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención. Por ejemplo, el ser humano puede tener más de 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85 o 90 años.

Preferentemente, se lleva a cabo en personas de edad avanzada, por ejemplo, un ser humano de más de 70, 75, 80, 85 o 90 años.

El tratamiento puede llevarse a cabo en un hombre.

El tratamiento puede llevarse a cabo en una mujer, incluyendo una mujer posmenopáusica, o en una mujer desde el comienzo de la menopausia o en una mujer hasta 10 años después del comienzo de la menopausia, por ejemplo, hasta 6 años, 7 años, 8 años, 9 años o 10 años después del comienzo de la menopausia.

Preferentemente, el nivel sérico de CRP se reduce a menos de 3 mg/L, más preferentemente a menos de 2 mg/L.

La administración puede incluir administración por vía oral, bucal o sublingual como se ha descrito anteriormente en relación con el primer aspecto de la invención.

La administración se realiza preferentemente al menos una vez al día.

La administración puede incluir administración que se repite durante un máximo de una, dos, tres, cuatro o cinco semanas, durante un máximo de uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez, once o doce meses, o durante más de uno, dos o tres años o más. preferentemente, la administración se repite durante al menos una semana, dos semanas, tres semanas, más preferentemente durante al menos cuatro semanas, un mes, dos meses o tres meses, y aún más preferentemente durante al menos seis meses, nueve meses o un año.

Preferentemente la administración es de una dosis unitaria de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{14} UFC/dosis unitaria, preferentemente de aproximadamente 1×10^8 a 1×10^{12} UFC/dosis unitaria, y más preferentemente de aproximadamente 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{11} UFC/dosis unitaria, y más preferentemente de aproximadamente 1×10^{10} UFC/dosis unitaria, de acuerdo con el primer aspecto de la invención. La administración preferentemente resulta en una dosis eficaz de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{14} UFC/dosis unitaria, preferentemente de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{12} UFC/dosis unitaria, más preferentemente de aproximadamente 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{11} UFC/dosis unitaria, y más preferentemente de aproximadamente 1×10^{10} UFC/dosis unitaria. Preferentemente, a cada individuo se le administra una dosis unitaria al día. Por lo tanto, la administración preferentemente resulta en una dosis diaria de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{14} UFC/día, preferentemente de aproximadamente 1×10^8 a aproximadamente 1×10^{12} UFC/día, más preferentemente de aproximadamente 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{11} UFC/día, y más preferentemente de aproximadamente 1×10^{12} UFC/día.

Se apreciará que también puede conseguirse una dosis diaria preferente mediante la administración de más de una subdosis, por ejemplo, mediante la administración dos veces al día de una dosis unitaria que comprenda la mitad de la dosis diaria preferente. Por lo tanto, los intervalos preferentes para la dosis eficaz también pueden representar la dosis diaria preferente que debe alcanzarse en cualquier número de dosis unitarias que resulte práctico.

Se puede indicar al individuo consumir la cantidad eficaz para uso terapéutico de la al menos una cepa probiótica de

acuerdo con el primer aspecto de la invención o la composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto de la invención, en combinación con agua, otro disolvente acuoso o un producto alimenticio, por ejemplo yogur.

5 La mención o discusión de un documento aparentemente publicado con anterioridad en esta especificación no debe interpretarse necesariamente como un reconocimiento de que el documento forma parte del estado de la técnica o es de conocimiento general.

A continuación, la invención se describirá con más detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos y figuras.

Breve descripción de las figuras

10 La Figura 1 muestra la media de cambio en los valores séricos reales/absolutos en mg/l de los niveles de proteína C reactiva (PCR) con respecto al valor de referencia, tras cuatro semanas de tratamiento, para cada uno de los tres grupos de tratamiento.

Ejemplos de formas de dosificación

Además de las formulaciones mencionadas anteriormente los siguientes ejemplos ilustran formulaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención.

Ejemplo A: Comprimido

Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
Lactosa	200 mg
Almidón	50 mg
Polivinilpirrolidona	5 mg
Estearato de magnesio	4 mg

15 Los comprimidos se preparan a partir de los ingredientes anteriores mediante granulación húmeda seguida de compresión.

Ejemplo B: Formulaciones en comprimidos

Las siguientes formulaciones A y B se preparan por granulación húmeda de los ingredientes con una solución de povidona, seguido de adición de estearato de magnesio y compresión.

20 Formulación A

(a) Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC	1x10 ⁹ UFC
(b) Lactosa B.P.	210 mg	26 mg
(c) Povidona B.P.	15 mg	9 mg
(d) Almidón glicolato sódico	20 mg	12 mg
(e) Estearato de magnesio	5 mg	3 mg

Formulación B

(a) Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC	1x10 ⁹ UFC
(b) Lactosa	150 mg	-
(c) Avicel PH 101	60 mg	26 mg
(d) Povidona B.P.	15 mg	9 mg
(e) Almidón glicolato sódico	20 mg	12 mg
(f) Estearato de magnesio	5 mg	3 mg

Formulación C

Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
Lactosa	200 mg
Almidón	50 mg
Povidona	5 mg
Estearato de magnesio	4 mg

Las siguientes formulaciones, D y E, se preparan por compresión directa de los ingredientes mezclados. La lactosa utilizada en la formulación E es del tipo de compresión en dirección.

5 Formulación D

Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
Almidón pregelatinizado NF15	150 mg

Formulación E

10	Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
	Lactosa	150 mg
	Avicel ®	100 mg

Formulación F (formulación de liberación controlada)

- 15 La formulación se prepara por granulación húmeda de los ingredientes (a continuación) con una solución de povidona, seguida de la adición de estearato de magnesio y compresión.

(a)	Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
(b)	Hidroxipropilmetilcelulosa 200 mg (Methocel K4M Premium)®	
(c)	Lactosa B.P.	53 mg
(d)	Povidona B.P.C.	28 mg
(e)	Estearato de magnesio	7 mg

La liberación se produce a lo largo de un periodo de unas 6-8 horas y se completó al cabo de 12 horas.

Ejemplo C: Formulaciones en cápsula

20

Formulación A

Se prepara una formulación en cápsula mezclando los ingredientes de la Formulación D del Ejemplo B anterior y rellenando una cápsula de gelatina dura de dos partes. La formulación B (*infra*) se prepara de manera similar.

Formulación B

	(a) Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
	(b) Lactosa B.P.	143 mg
	(c) Almidón glicolato sódico	25 mg
5	(d) Estearato de magnesio	2 mg

Formulación C

	(a) Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
10	(b) Macrogol 4000 BP	350 mg

Las cápsulas se preparan fundiendo el Macrogol 4000 BP, dispersando las cepas probióticas en la masa fundida y rellenando esta en una cápsula de gelatina dura de dos partes.

Formulación D (cápsula de liberación controlada)

15 La siguiente formulación de cápsula de liberación controlada se prepara mediante la extrusión de los ingredientes a, b y c con una extrusora, seguida de la esferonización del producto extruido y el secado. A continuación, los gránulos secos se revisten con una membrana de liberación controlada (d) y se introducen en una cápsula de gelatina dura de dos piezas.

	(a) Cepas probióticas	1x10 ⁹ UFC
	(b) Celulosa microcristalina	125 mg
20	(c) Lactosa BP	125 mg
	(d) Etilcelulosa	13 mg

Ejemplo experimental 1

25 Materiales y procedimientos

La posible actividad antiinflamatoria del producto probiótico se evaluó en un ensayo aleatorizado doble ciego controlado con placebo con 66 participantes sanos > 70 años de edad con inflamación sistémica de bajo grado (definida por la proteína C reactiva; nivel sérico 2-10 mg/L).

Los criterios de exclusión del estudio fueron:

- 30
- Ingesta de tratamiento antibiótico en las últimas cuatro semanas antes de la inclusión en el estudio;
 - Actualmente en tratamiento con corticosteroides;
 - Presencia de enfermedad inflamatoria crónica.

Los individuos fueron asignados aleatoriamente a uno de los tres grupos:

- 35
1. *Lactobacillus plantarum* Heal 9 (Lp Heal 9)
 2. *Lactobacillus plantarum* Heal 9 + bayas (Bar + Lp Heal 9)
 3. Placebo

40 Cada producto del estudio se formuló como polvo a 10 g/dosis y debía mezclarse con leche agria/yogur y consumirse una vez al día durante un periodo de cuatro semanas. El Producto de Prueba A (para el grupo 2) consistía en una dosis diaria de mil millones de unidades formadoras de colonias (10⁹ UFC/dosis) de bacterias probióticas liofilizadas *Lactobacillus plantarum* HEAL 9, bayas liofilizadas (moras y grosellas negras) y maltodextrina. El Producto de Prueba B (para el grupo 1) consistía en una dosis diaria de 1.000 millones de unidades formadoras de colonias (10⁹ UFC/dosis)

de bacterias probióticas *Lactobacillus plantarum* HEAL 9 liofilizadas, y maltodextrina, tratada para parecerse al Producto de Prueba A en aspecto y sabor. El producto placebo consistía en maltodextrina, tratada con colorantes y aromatizantes/agentes aromáticos para parecerse al Producto de Prueba A en apariencia y sabor.

5 También se solicitó a los participantes llevar un diario de estudio durante todo el periodo de estudio para documentar su salud intestinal y como medio para verificar el cumplimiento, y abstenerse de tomar otros productos que contuvieran bacterias probióticas.

Se tomaron muestras de sangre y heces al inicio y al final del estudio para analizar los siguientes parámetros:

10 1. Las muestras de heces se utilizaron para analizar la calprotectina (un marcador de inflamación intestinal) y la zonulina (una proteína que modula la permeabilidad de las uniones estrechas entre las células de la pared intestinal y se utiliza como marcador de un aumento de la permeabilidad intestinal);

2. Se utilizaron muestras de sangre para el análisis de los marcadores de inflamación sistémica PCR y fibrinógeno.

Los niveles de PCR en sangre, suero y plasma pueden determinarse mediante procedimientos y aparatos disponibles en el mercado, como el ensayo Alere Afinion™ CRP utilizando el analizador Afinion™ AS100 de Alere/Abbott (véase www.alere.com).

15 Esta prueba es un procedimiento in vitro que utiliza un ensayo inmunoquímico en fase sólida basado en una membrana revestida con anticuerpos anti-PCR humana, que reaccionan con la PCR en la muestra.

El analizador mide la intensidad del color de la membrana, que es proporcional a la cantidad de GRP presente en la muestra.

20 Los niveles de PCR en suero pueden analizarse de forma sensible mediante diversos procedimientos (véase Pearson TA *et al* (2003) Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association, *Circulation*. 107; 499-511

Resultados

Para el análisis estadístico del estudio se utilizó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon.

25 No se detectaron diferencias en los niveles de zonulina y fibrinógeno entre los grupos del probiótico y el placebo.

Sin embargo, el nivel del marcador inflamatorio GRP aumentó con el tiempo en el grupo placebo (grupo 3) y se redujo en el grupo que recibió *Lp* HEAL 9 y bayas - Bar + *Lp* Heal 9 (grupo 2) (Fig. 1). El efecto fue aún más pronunciado en el grupo que sólo consumía probióticos, sin la adición de bayas (grupo 1) (Fig. 1).

30 El nivel de calprotectina expresado como media de cambio a lo largo del tiempo no difirió entre ninguno de los grupos probióticos y el placebo. Sin embargo, hubo un número significativamente menor de participantes en el grupo de sólo *Lactobacillus plantarum* (*Lp* HEAL 9) (grupo 1) que mostraron un aumento de los niveles de calprotectina a lo largo del tiempo en comparación con el placebo (grupo 3) ($p = 0,028$) (Tabla 1).

Tabla 1: Análisis del número de participantes con niveles estables o reducidos de calprotectina frente a niveles elevados de calprotectina

	Participantes con niveles estables o reducidos de calprotectina (% del grupo)	Participantes con niveles elevados de calprotectina (% del grupo)	Valor de p
Grupo 1: <i>Lp</i> HEAL 9	15(83,3)	3(16,6)	0,028
Grupo 3: Placebo	11 (50)	11 (50)	

35

Conclusión

Los resultados obtenidos con la PCR y la calprotectina demuestran que *Lactobacillus plantarum*, en particular *Lactobacillus plantarum* HEAL 9, es eficaz para tratar y/o prevenir una inflamación sistémica relacionada con la edad en personas mayores sanas.

40

REIVINDICACIONES

- 5 1. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso en el tratamiento y/o prevención de una inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano, en la que la al menos una cepa de *Lactobacillus plantarum* se selecciona del grupo de las cepas de *Lactobacillus plantarum* DSM 15312 (HEAL 9), DSM 15313 (HEAL 19) y DSM 15316 (HEAL 99).
2. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el ser humano tiene más de 60, 65, 70, 75, 80, 85 o 90 años.
3. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el ser humano es un hombre.
- 10 4. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en la que el ser humano es una mujer.
5. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la mujer es una mujer posmenopáusica.
- 15 6. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la dosis eficaz de al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* se administra al menos una vez al día.
- 20 7. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la dosis eficaz de la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* es de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{14} unidades formadoras de colonias (UFC) por dosis, preferentemente de aproximadamente 10^8 a aproximadamente 10^{12} UFC por dosis, o más preferentemente de aproximadamente 10^9 a aproximadamente 10^{11} UFC por dosis.
- 25 8. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que una o más dosis eficaces de la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* se administran en un día, y en la que la dosis diaria de la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* es de aproximadamente 10^6 a aproximadamente 10^{14} UFC por día, preferentemente de aproximadamente 10^8 a aproximadamente 10^{12} UFC por día, o más preferentemente de aproximadamente 10^9 a aproximadamente 10^{11} UFC por día.
- 30 9. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que el tratamiento y/o prevención de la inflamación sistémica relacionada con la edad implica reducir y/o prevenir un aumento del nivel de proteína C reactiva (CRP) y/o reducir y/o prevenir un aumento del nivel de cal protectina.
- 35 10. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que la al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* es *Lactobacillus plantarum* HEAL 9 (DSM 15312).
- 40 11. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que la al menos una cepa probiótica se administra en una composición que comprende al menos un portador seleccionado entre un portador aceptable para uso farmacéutico, un excipiente aceptable para uso farmacéutico, un diluyente, y un alimento.
- 45 12. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que la composición se proporciona en forma de una solución, suspensión, emulsión, comprimido, gránulo, polvo, cápsula, pastilla para chupar, goma de mascar, o supositorio.
13. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con la reivindicación 11, en la que el alimento es un producto a base de cereales, un producto lácteo, una bebida de zumo, o un alimento fermentado.
14. Al menos una cepa probiótica de *Lactobacillus plantarum* para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones
- 1 a 13 en la que el ser humano tiene inflamación sistémica indicada por un nivel de PCR en suero de 2-10 mg/L o 3-10 m/L.
- 50 15. Una composición farmacéutica que comprende la al menos una cepa probiótica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, y uno o más excipientes aceptables para uso farmacéutico, para uso en el tratamiento y/o prevención de la inflamación sistémica relacionada con la edad en un ser humano.

Fig 1

