

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 814 951**

51 Int. Cl.:

A61K 31/733	(2006.01)	A23L 33/21	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)		
A61K 8/73	(2006.01)		
A61P 5/50	(2006.01)		
A61P 3/04	(2006.01)		
A61P 3/10	(2006.01)		
C08B 37/00	(2006.01)		
A61K 49/12	(2006.01)		
C08L 5/00	(2006.01)		
A23L 33/10	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.07.2013 PCT/GB2013/052056**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **06.02.2014 WO14020344**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.07.2013 E 13747685 (9)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020 EP 2879713**

54 Título: **Compuestos y sus efectos sobre el control del apetito y la sensibilidad a la insulina**

30 Prioridad:

31.07.2012 GB 201213629

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.03.2021

73 Titular/es:

IMPERIAL COLLEGE INNOVATIONS LIMITED (50.0%)
Level 1 Faculty Building, c/o Imperial College, Exhibition Road
London SW7 2AZ, GB y
THE UNIVERSITY COURT OF THE UNIVERSITY OF GLASGOW (50.0%)

72 Inventor/es:

FROST, GARY;
MORRISON, DOUGLAS y
PRESTON, THOMAS

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 814 951 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

Compuestos y sus efectos sobre el control del apetito y la sensibilidad a la insulina

5 **1. Campo de la invención**

Esta aplicación se refiere al uso de ésteres de propionato de inulina para controlar el apetito, la ingesta de alimentos y/o las calorías y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina, particularmente en el campo de la obesidad y la diabetes.

10 **2. Antecedentes de la invención**

15 La obesidad y sus enfermedades asociadas, incluyendo la diabetes tipo 2, la cardiopatía coronaria y ciertas formas de cáncer, son los principales desafíos de la salud pública para el siglo XXI. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado que los niveles globales de obesidad infantil y adulta han alcanzado proporciones epidémicas con una incidencia alarmante en los países desarrollados y en desarrollo (WHO, Obesity: Preventing and managing the global epidemic, Report on a WHO Consultation, 2000). Se predice que hasta el 58 % de la población adulta del mundo tendrá sobrepeso u obesidad en 2030 (Kelly, T., *et al.*, *Int. J. Obes.* 32:1431-7, 2008).

20 La diabetes es una enfermedad crónica que ocurre cuando el páncreas no produce suficiente insulina (diabetes tipo 1) o cuando el cuerpo no puede usar eficazmente la insulina que produce (diabetes tipo 2). La diabetes tipo 2, que está relacionada con el sobrepeso, la obesidad e inactividad física, representa alrededor del 90 % de todos los casos de diabetes, y el número de casos está aumentando a nivel mundial. La OMS pronostica que las muertes por diabetes se duplicarán entre 2005 y 2030 (hoja informativa de la OMS n.º 312, 2011), de modo que para 2030 la diabetes se convertirá en la séptima causa principal de muerte en todo el mundo.

25 El riesgo de enfermedad relacionado con la obesidad, como el riesgo de enfermedad de diabetes tipo 2 o el riesgo de enfermedad cardiovascular, aumenta independientemente con un mayor índice de masa corporal (IMC). Este riesgo se ha cuantificado como un aumento del cinco por ciento en el riesgo de enfermedad cardíaca para las mujeres, y un aumento del siete por ciento en el riesgo de enfermedad cardíaca para los hombres, para cada punto de un IMC mayor que 24,9 (véase Kenchaiah, M. D., *et al.*, *N. Engl. J. Med.* 347:305, 2002; Massie, B. M., *N. Engl. J. Med.* 347:358, 2002). Además, existe evidencia sustancial de que la pérdida de peso en personas obesas reduce importantes factores de riesgo de enfermedad. Incluso una pequeña pérdida de peso, como el 10 % del peso corporal inicial, tanto en adultos con sobrepeso como en obesos se ha asociado con una disminución de factores de riesgo como la hipertensión, la hiperlipidemia y la hiperglucemia. Recientemente se ha demostrado que una pérdida de peso considerable puede curar efectivamente la diabetes tipo 2 (Lim, E. L., *et al.*, *Diabetologia* 54:2506-14, 2011).

30 La causa de la obesidad es compleja y multifactorial. La evidencia creciente sugiere que la obesidad no es un simple problema de autocontrol, sino que es un trastorno complejo que involucra la regulación del apetito y el metabolismo energético. Aunque la etiología de la obesidad no está definitivamente establecida, se cree que contribuyen los factores genéticos, metabólicos, bioquímicos, culturales y psicosociales.

35 La dieta y el ejercicio proporcionan un proceso simple para disminuir el aumento de peso, sin embargo, las personas con sobrepeso y obesidad a menudo no pueden controlar suficientemente esos factores para perder peso de manera eficaz. La farmacoterapia está disponible; la Administración de fármacos y alimentos ha aprobado varios medicamentos para bajar de peso que pueden usarse como parte de un programa integral para bajar de peso. Sin embargo, muchos de estos medicamentos han demostrado tener efectos secundarios adversos graves y han tenido que retirarse. Una farmacoterapia aceptable debe ser aceptable para su uso durante un período prolongado de tiempo, por lo que los riesgos de efectos secundarios deben ser bajos. Cuando los métodos menos invasivos han fallado y el paciente tiene un alto riesgo de morbilidad o mortalidad relacionado con la obesidad, la cirugía para bajar de peso es una opción en pacientes cuidadosamente seleccionados con obesidad clínicamente severa. Sin embargo, estos tratamientos son de alto riesgo y adecuados para su uso en un número limitado de pacientes.

40 No solo los sujetos obesos pueden querer perder peso. Las personas con peso, por ejemplo, en la parte superior del intervalo recomendado, es posible que deseen reducir su peso para acercarlo al peso ideal, o aquellos con un peso saludable pueden desear recibir ayuda para mantener ese peso evitando aumentar de peso. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de agentes que puedan usarse para lograr la pérdida de peso en sujetos con sobrepeso y obesidad, así como en sujetos de peso normal.

45 El informe de Foresight destacó la regulación del apetito como un objetivo principal en el tratamiento dietético de la obesidad (Butland, B. J., *et al.*, Foresight Tackling Obesities: Future Choices - Project Report, Government Office for Science, 2007). De particular interés es el concepto de alimentos funcionales o productos novedosos que aumentan la saciedad. El objetivo es diseñar alimentos o regímenes dietéticos que aumenten la sensación de plenitud y alienten al individuo a dejar de comer antes, reduciendo así la ingesta total de energía (Hill, J. O., Peters, J. C., *Br. J. Nutr.* 88 (supl. 2):S213-8, 2002).

50 Un objetivo de una farmacoterapia exitosa o un tratamiento dietético de la obesidad sería que podría ser aplicable a

nivel de salud pública. Esto significa un tratamiento rentable que puede aplicarse de manera segura a nivel de la población para mejorar la regulación del apetito y evitar el aumento de peso durante toda la vida. Una estrategia atractiva es el enriquecimiento de alimentos con componentes que reducen el apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías. Una composición que podría agregarse a los alimentos básicos, como el pan, sin efecto notable en la palatabilidad, sería fácilmente accesible para la población en general y, por lo tanto, aplicable a nivel de salud pública.

El documento EP 0898900 (Societe des Produits Nestle SA) desvela una composición nutricional para diabéticos que incluye una mezcla de fibras que contiene una fibra viscosa soluble e inulina, un hidrolizado de inulina, o ambos. El documento KR20090030441 (Amorepacific Corporation) desvela una composición alimenticia para reducir la obesidad abdominal que contiene inulina y fructooligosacárido.

Actualmente existe la necesidad de más farmacoterapia y tratamientos dietéticos para la obesidad que regulen con éxito el apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías, así como los tratamientos que no tienen efectos secundarios desagradables. También existe la necesidad de farmacoterapia y tratamientos dietéticos que puedan prevenir el aumento de peso en sujetos sanos o con sobrepeso. El objetivo de los inventores actuales es identificar un tratamiento que reduzca el apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías y/o que puedan mejorar la sensibilidad a la insulina en un sujeto, y que puedan ser aplicables a nivel de salud pública.

3. Sumario de la invención

La invención se define mediante las reivindicaciones. Cualquier materia objeto que se encuentre fuera del alcance de las reivindicaciones se proporciona solo con fines de información.

La presente invención se basa en el hallazgo de los presentes inventores de que el éster de propionato de inulina administrado por vía oral reduce el apetito, la ingesta de alimentos y la ingesta de calorías, aumenta la saciedad y mejora la sensibilidad a la inulina en los seres humanos.

4. Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra las relaciones molares de ácidos grasos de cadena corta en lotes de cultivos fecales después de la ingestión de éster de propionato de inulina de diversos grados de esterificación (d_e) en comparación con la inulina no sustituida.

Las Figuras 2 (a) a (c) muestran los efectos del éster de propionato de inulina variando d_e en los niveles de glucosa en sangre.

Las Figuras 3 (a) a (c) muestran los efectos del éster de propionato de inulina variando d_e en los niveles de insulina en sangre.

La Figura 4 (a) muestra los efectos del éster de propionato de inulina variando d_e en la ingesta total de alimentos de las comidas tomados durante un período de 7 horas; y 4 (b) muestra los efectos del éster de propionato de inulina variando d_e en la ingesta de alimentos de las comidas *ad libitum* tomados 7 horas después de la ingestión del éster de propionato de inulina.

La Figura 5 muestra calificaciones subjetivas de apetito de deseo de comer y plenitud con dosis crecientes de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) durante un período de 7 horas.

La Figura 6 muestra el enriquecimiento de ^{13}C en aire espirado (% recuperado) y nivel de hidrógeno en el aliento (ppm) después del consumo de ^{13}C marcado con éster de propionato de inulina.

La Figura 7 (a) muestra la ingesta de alimentos 7 horas después de la ingestión de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$, 10 g) en comparación con la inulina; y la Figura 7 (b) muestra un análisis individual de la ingesta de alimentos en 20 sujetos 7 horas después de la ingestión de suplemento de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$, 10 g).

Las Figuras 8 (a) a (e) muestran resultados a escala visual analógica para sensaciones de hambre, náuseas, satisfacción, posible ingesta de alimentos y plenitud de la ingestión de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$, 10 g) en y hasta 7 horas después de la ingestión.

Las Figuras 9 (a) y (d) muestran los niveles de péptidos intestinales GLP-1 y PYY (pmol/L) en y hasta 7 horas después de la ingestión de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$, 10 g); Las Figuras 9 (b) y (e) muestran las AUC en plasma para estos experimentos entre 0 y 240 min; y las Figuras 9 (c) y (f) muestran las AUC en plasma para estos experimentos entre 240 y 420 min.

Las Figuras 10 (a) y (b) muestran los niveles de glucosa (mmol/l) e insulina (mU/l) en y hasta 7 horas después de la ingestión de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$, 10 g).

Las Figuras 11 (a) y (b) muestran los niveles de PYY y GLP-1 liberados de las células colónicas humanas primarias después de la incubación con propionato.

La Figura 12 muestra el proceso de reclutamiento y retención de sujetos en la investigación de la suplementación alimentaria a largo plazo en sujetos humanos.

La Figura 13 muestra las características basales de los sujetos y los cambios en los factores de riesgo cardiovascular y de diabetes después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina.

La Figura 14 (a) muestra los efectos de la suplementación con éster de propionato de inulina de 24 semanas ($d_e =$

0,74) y control de inulina sobre el peso corporal; La Figura 14 (b) muestra la proporción de sujetos que ganaron 3 % o más y 5 % o más de su peso inicial al final de las 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina; y las Figuras 14 (c) y (d) muestran los niveles de péptidos intestinales GLP-1 y PYY (pmol/L) en el punto de referencia (semana 0) y después de 24 semanas de suplementación de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y de control de inulina (semana 24).

La Figura 15 muestra depósitos de grasa corporal medios en el punto de referencia (semana 0) y después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina (semana 24).

La Figura 16 muestra las concentraciones bacterianas (Log_{10} células/ml) de *Bifidobacterium* spp (Bif164), *Bacteroides/Prevotella* (Bac303), *Lactobacillus/Enterococcus* (Erec482), *Clostridium histolyticum* (Chis150), *Atopobium cluster* (Ato291), *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* (Erec482) y bacterias totales (EUB338 I II III) en fluido de cultivo a las 0, 10, 24, 34 y 48 h después de la fermentación anaerobia de cultivo en lotes fecales con pH controlado con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) (A), control de inulina (B) y control sin sustrato (C).

La Figura 17 muestra el nivel medio de hidrógeno en la respiración (ppm) después del consumo de desayuno estándar en el punto de referencia (0 semanas) y después del consumo de desayuno estándar que incluye 10 g de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) (grupo de PE) o 10 g de inulina (grupo de control) después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina y control de inulina (semana 24).

La Figura 18 (a) muestra la respuesta de glucosa posprandial (mmol/l) en el punto de referencia (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina; La Figura 18 (b) muestra la AUC de glucosa en plasma de glucosa en el punto de referencia (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina; y la Figura 18 (c) muestra el cambio desde la AUC en plasma de glucosa de referencia (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina.

La Figura 19 (a) muestra la respuesta a la insulina posprandial (mU/l) al inicio del estudio (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina; La Figura 19 (b) muestra la AUC de insulina en plasma en el punto de referencia (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina; y la Figura 19 (c) muestra el cambio desde la AUC en plasma de insulina de referencia (semana 0) y en la semana 24 después de 24 semanas de suplementación con éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) y control de inulina.

5. Definiciones

Para facilitar la revisión de las diversas realizaciones de la divulgación, se proporcionan las siguientes explicaciones de términos específicos:

Animal: Organismos vertebrados multicelulares vivos, una categoría que incluye, por ejemplo, mamíferos y aves. El término mamífero incluye mamíferos humanos y no humanos. De manera similar, el término "sujeto" incluye sujetos tanto humanos como veterinarios.

Apetito: Un deseo natural, o anhelo de comida. En una realización, el apetito se mide mediante una encuesta para evaluar el deseo de comer. El aumento del apetito generalmente conduce a un mayor comportamiento de alimentación.

El apetito se puede medir por cualquier medio conocido por un experto en la materia. Por ejemplo, la disminución del apetito puede evaluarse mediante una evaluación psicológica relacionada con el hambre percibida, saciedad y/o plenitud. El hambre se puede evaluar por cualquier medio conocido por un experto en la materia. Por ejemplo, el hambre se evalúa mediante ensayos psicológicos, tal como mediante una evaluación de las sensaciones de hambre y la percepción sensorial utilizando un cuestionario, tal como, pero sin limitación, un cuestionario de puntuación analógica visual (VAS). En un ejemplo específico, no limitante, el hambre se evalúa respondiendo preguntas relacionadas con el deseo de alimentos, bebida, posible consumo de alimentos, náuseas y percepciones relacionadas con el olfato o el gusto.

Supresores del apetito: Los compuestos que disminuyen el deseo de alimentos. Los supresores del apetito disponibles en el mercado incluyen, amfepramona (dietilpropion), fentermina, mazindol y fenilpropanolamina fenfluramina, dexfenfluramina y fluoxetina.

Índice de masa corporal (IMC): Una fórmula matemática para medir la masa corporal, también a veces llamado Índice de Quetelet. El IMC se calcula dividiendo el peso (en kg) por la altura² (en metros²). Los estándares actuales para hombres y mujeres aceptados como "normales" son un IMC de 20-24,9 kg/m². En una realización, un IMC mayor de 25 kg/m² puede usarse para identificar sujetos como obesos. La obesidad de grado I (que a veces se denomina "sobrepeso" en lugar de obesidad) corresponde a un IMC de 25-29,9 kg/m². La obesidad de grado II corresponde a un IMC de 30-40 kg/m²; y la obesidad de grado III corresponde a un IMC superior a 40 kg/m² (Jequier, E., Am. J. Clin. Nutr. 45:1035-47, 1987). El peso corporal ideal variará entre especies e individuos según la altura, constitución corporal, estructura ósea y sexo.

Diabetes: Un fallo de las células para transportar glucosa endógena a través de sus membranas debido a una

deficiencia endógena de insulina y/o un defecto en la sensibilidad a la insulina. La diabetes es un síndrome crónico del metabolismo deteriorado de hidratos de carbono, proteínas y grasas debido a la secreción insuficiente de insulina o al objetivo de resistencia a la insulina en los tejidos. Aparece en dos formas principales: diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM, tipo I) y diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM, tipo II) que difieren en etiología, patología, genética, edad de inicio y tratamiento.

Las dos formas principales de diabetes se caracterizan por la incapacidad de administrar insulina en una cantidad y con el tiempo preciso que se necesita para controlar la homeostasis de la glucosa. La diabetes tipo 1 o diabetes mellitus dependiente de insulina (IDDM) es causada por la destrucción de las células β , lo que da como resultado niveles insuficientes de insulina endógena. La diabetes tipo 2, o diabetes no insulino dependiente, resulta de un defecto en la sensibilidad del cuerpo a la insulina y una deficiencia relativa en la producción de insulina. La diabetes tipo 2 está relacionada con el sobrepeso, obesidad e inactividad física.

Grado de sustitución: El grado de sustitución (d_e) de un hidrato de carbono, por ejemplo, inulina, es el número promedio de grupos de sustituyentes unidos por unidad de azúcar. El d_e de éster de propionato de inulina es el número promedio de grupos de propionato unidos por unidad de fructosa o glucosa de la molécula de inulina. El máximo d_e del éster de propionato de inulina es 3 debido a que cada unidad de fructosa solo tiene 3 grupos OH libres.

Ingesta de alimentos: La cantidad de alimentos consumidos por un individuo. La ingesta de alimentos se puede medir en volumen o en peso o en calorías. Por ejemplo, la ingesta de alimentos puede ser la cantidad total de alimentos consumidos por un individuo. O bien, la ingesta de alimentos puede ser la cantidad de proteínas, grasa, hidratos de carbono, colesterol, vitaminas, minerales, o cualquier otro componente alimenticio, del individuo. La "ingesta de proteínas" se refiere a la cantidad de proteínas consumidas por un individuo. De manera similar, "ingesta de grasa", "ingesta de hidratos de carbono", "ingesta de colesterol", "ingesta de vitaminas" e "ingesta de minerales" se refiere a la cantidad de proteínas, grasa, hidratos de carbono, colesterol, vitaminas o minerales consumidos por un individuo.

Péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1): GLP1 se deriva del producto de transcripción del gen proglucagón. Las formas biológicamente activas de GLP1 son formas truncadas conocidas como GLP1⁽⁷⁻³⁷⁾ y GLP1⁽⁷⁻³⁶⁾-NH₂. La secuencia de GLP1 humano está disponible, por ejemplo, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=GLP1>.

GPR43: GPR43, también conocido como Receptor de ácidos grasos libres 2 (FFAR2) es miembro de una familia homóloga de receptores acoplados a proteínas huérfanas G y se expresa en las células L enteroendocrinas que liberan las hormonas GLP-1 y PYY. Los ácidos grasos de cadena corta son ligandos de GPR43, con el propionato que tiene la mayor afinidad por el receptor, seguido de acetato. (Le Poul, E., et al, J. Biol. Chem. (2003), vol. 278, páginas 25481 - 25489). La secuencia de GLP1 humano está disponible, por ejemplo, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=FFAR2>

Inulina: Inulina es un término genérico para cubrir todos los fructanos lineales unidos a β (2 \rightarrow 1) glucosídico, a menudo con una unidad terminal de glucosa. Las inulinas con glucosa terminal se conocen como alfa-D-glucopiranosil- [beta-D-fructofuranosil](n-1)-D-fructofuranósidos, abreviado como GpyFn. Las inulinas sin glucosa son beta-D-fructopiranosil-[D-fructofuranosil](n-1)-D-fructofuranósidos, abreviado como FpyFn. En general, las inulinas derivadas de plantas contienen entre 20 y varios miles de unidades de fructosa. Los compuestos más pequeños se llaman fructo-oligosacáridos, el más simple es 1-questosa, que tiene 2 unidades de fructosa y 1 unidad de glucosa.

Hidratos de carbono no digeribles (NDC): Los NDC son hidratos de carbono que no son digeribles en el estómago y el intestino delgado, pero se descomponen en el colon por el proceso de fermentación de bacterias a SCFA, biomasa bacteriana y otros subproductos. Los NDC incluyen inulina, pectina, fructo-oligosacárido, β -glucanos, L-ramnosa, arabinogalactano y galacto-oligosacáridos y galacto-oligosacáridos.

Dieta diaria normal: El consumo promedio de alimentos para un individuo de una especie determinada. Una dieta diaria normal se puede expresar en términos de ingesta calórica, ingesta de proteínas, ingesta de hidratos de carbono y/o ingesta de grasas. Una dieta diaria normal en seres humanos generalmente comprende alrededor de 2.800 calorías.

Además, una dieta diaria normal en seres humanos generalmente incluye aproximadamente 12 g a aproximadamente 45 g de proteína, aproximadamente 120 g a aproximadamente 610 g de hidratos de carbono y aproximadamente 11 g a aproximadamente 90 g de grasa. Una dieta baja en calorías no sería más de aproximadamente el 85 %, y preferentemente no más de aproximadamente el 70 %, de la ingesta calórica normal de un individuo humano.

En los animales, los requerimientos calóricos y de nutrientes varían según la especie y el tamaño del animal. Por ejemplo, en gatos, la ingesta calórica total por libra, así como el porcentaje de distribución de proteínas, hidratos de carbono y grasas varía con la edad del gato y el estado reproductivo. Una guía general para gatos, sin embargo, es de 18,2 cal/kg/día (40 cal/lb/día). Aproximadamente 30 % a aproximadamente 40 % deberían ser proteínas, aproximadamente 7 % a aproximadamente 10 % debe provenir de hidratos de carbono, y aproximadamente 50 % a aproximadamente 62,5 % debe derivarse de la ingesta de grasas. Un experto en la materia puede identificar

fácilmente la dieta diaria normal de un individuo de cualquier especie.

Obesidad: Una condición en la cual el exceso de grasa corporal puede poner a una persona en riesgo para la salud (véase Barlow, S. E., y Dietz, W. H., *Pediatrics* 102:E29, 1998; National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI), *Obes. Res.* 6 (supl. 2):51S-209S, 1998). El exceso de grasa corporal es el resultado de un desequilibrio en el consumo de energía y el gasto de energía. Por ejemplo, el índice de masa corporal (IMC) se puede utilizar para evaluar la obesidad. En una convención de uso común, un IMC de 25,0 kg/m² hasta 29,9 kg/m² es sobrepeso, mientras que un IMC de 30 kg/m² o mayor es obeso.

En otra convención, la circunferencia de la cintura se utiliza para evaluar la obesidad. En esta convención, en hombres, una circunferencia de cintura de 102 cm o más se considera obesa, mientras que en las mujeres una circunferencia de la cintura de 89 cm o más se considera obesa. Una fuerte evidencia muestra que la obesidad afecta tanto la morbilidad como la mortalidad de los individuos. Por ejemplo, un individuo obeso tiene un mayor riesgo de enfermedad cardíaca, diabetes no insulino dependiente (tipo 2), hipertensión, ictus, cáncer (p. ej., de endometrio, de mama, de próstata y de colon), dislipidemia, enfermedad de la vesícula, apnea del sueño, fertilidad reducida y osteoartritis, entre otros (véase Lyznicki, J. M., *et al.*, *Am. Fam. Phys.* 63:2185, 2001).

Sobrepeso: Un individuo que pesa más que su peso corporal ideal. Un individuo con sobrepeso puede ser obeso, pero no es necesariamente obeso. Por ejemplo, una persona con sobrepeso es cualquier persona que desee disminuir su peso. En una convención, un individuo con sobrepeso es un individuo con un IMC de 25,0 kg/m² hasta 29,9 kg/m².

Péptido YY (PYY): El término PYY como se usa en el presente documento se refiere a un polipéptido péptido YY, una hormona secretada en la sangre por las células que recubren el intestino delgado inferior (íleon) y el colon. La secuencia de GLP1 humano está disponible, por ejemplo, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/?term=pyy>

Administración periférica: La administración fuera del sistema nervioso central. La administración periférica no incluye la administración directa al cerebro. La administración periférica incluye, pero sin limitación, administración intravascular, intravenosa, intramuscular, subcutánea, por inhalación, oral, intraperitoneal, rectal, transdérmica, sublingual o intranasal.

Ácidos grasos de cadena corta (SCFA): Los ácidos grasos de cadena corta son ácidos grasos con colas alifáticas de 6 carbonos o menos. Los SCFA incluyen ácidos carboxílicos de 6 carbonos o menos, estos incluyen acetato, propionato y butirato, así como ácidos ramificados como isobutirato (2-metilpropionato) e isovalerato (3-metilbutirato). El acetato de SCFA, propionato y butirato son productos finales clave de la fermentación colónica de NDC.

Cantidad terapéuticamente eficaz: Una dosis suficiente para prevenir el avance, o para causar la regresión de un trastorno, o que sea capaz de aliviar un signo o síntoma de un trastorno, o que sea capaz de lograr el resultado deseado. En varias realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz en el contexto de la presente invención es una cantidad suficiente para inhibir o detener el aumento de peso, o una cantidad suficiente para disminuir el apetito, o una cantidad suficiente para reducir la ingesta calórica o la ingesta de alimentos o aumentar el gasto de energía.

6. Descripción detallada

En el presente documento se desvela el uso de un éster de propionato de inulina, para la reducción de uno o más de los siguientes en un sujeto:

- el apetito,
- la ingesta de alimentos,
- la ingesta de calorías

y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina.

En particular, el sujeto necesita una reducción de uno o más del apetito, la ingesta de alimentos o la ingesta de calorías y/o la sensibilidad a la insulina mejorada. En particular, el sujeto necesita una reducción de uno o más del apetito, la ingesta de alimentos o la ingesta de calorías.

En consecuencia, la invención proporciona un éster de propionato de inulina para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad o diabetes. En el presente documento se desvela el uso de un éster de propionato de inulina para el control y mantenimiento del peso corporal en sujetos con un peso normal.

Los inventores actuales han descubierto que la administración oral de éster de propionato de inulina a seres humanos reduce la ingesta de alimentos. Por ejemplo, cuando los sujetos recibieron 10 g de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$), en una comida posterior, comieron en promedio 162 calorías menos que un grupo de control que recibió inulina. El éster de propionato de inulina no suprimió las respuestas subjetivas del apetito, pero redujo significativamente el

tamaño de la comida.

Los inventores han descubierto que suplementar la dieta con éster de propionato de inulina conduce a una mayor saciedad. Esto hace que los ésteres de propionato sean un tratamiento dietético viable (incluida la prevención profiláctica) para la obesidad. En muchos casos, los ésteres de propionato de inulina de la presente invención exhiben una potencia mejorada y/o una mayor duración de acción y/o menos efectos secundarios y/o mejor cumplimiento que la farmacoterapia alternativa y los tratamientos dietéticos para la obesidad.

Los inventores también han descubierto que suplementar la dieta con éster de propionato de inulina conduce a una disminución de la producción de ácidos grasos del tejido adiposo, lo que conduce a una mejor sensibilidad a la insulina. Esto hace que los ésteres de propionato sean un tratamiento dietético viable para la diabetes. En muchos casos, los ésteres de propionato de inulina de la presente invención exhiben una potencia mejorada y/o una mayor duración de acción y/o menos efectos secundarios y/o mejor cumplimiento que la farmacoterapia alternativa y los tratamientos dietéticos para la diabetes.

También se ha encontrado que el aumento de la dosis de éster de propionato de inulina con un grado constante de sustitución condujo a una disminución del deseo de comer y un mayor nivel de plenitud en las respuestas subjetivas del apetito. Por ejemplo, cuando los sujetos recibieron 10 g de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$), en una comida posterior, comieron un 13 % menos de energía que el control ($p < 0,05$).

Los inventores actuales han descubierto que la administración oral de éster de propionato de inulina a humanos reduce la ingesta de alimentos de una manera dependiente de la dosis con respecto a la dosis de propionato (es decir, grado de sustitución del éster de propionato de inulina) en comparación con un control de inulina no sustituida. Por ejemplo, cuando los sujetos recibieron 10 g de éster de propionato de inulina con un grado de esterificación de 0,23, en una comida posterior, comieron 1100 Kcal, mientras que, como cuando se les dieron 10 g de éster de propionato de inulina con un grado de esterificación de 0,74, comieron 950 Kcal (véase la Figura 4 (b)).

Los inventores actuales han descubierto que la administración a largo plazo de éster de propionato de inulina a seres humanos por administración oral diaria redujo la ingesta de alimentos, evitó el aumento de peso y aumentó la pérdida de peso después de 16 semanas. Por ejemplo, en un ensayo controlado aleatorio de 24 semanas, el aumento de peso en el grupo de éster de propionato de inulina fue menor que para el grupo de control (el grupo de éster de propionato de inulina perdió un peso corporal medio de $1,02 \pm 0,57$ kg ($p = 0,062$); el grupo de control ganó $0,38 \pm 0,69$ kg ($p = 0,558$)), con significativamente menos voluntarios ganando > 3 o > 5 % de peso corporal. Se produjo un aumento significativo en la tasa de pérdida de peso en el grupo de éster de propionato de inulina entre las semanas 16-24 ($0,81 \pm 0,26$ kg; $p = 0,002$). Se observó una disminución en la ingesta de energía en el grupo de éster de propionato de inulina del 4 % a lo largo de las 24 semanas del estudio.

En el mismo estudio de 24 semanas, los inventores descubrieron que la administración a largo plazo de éster de propionato de inulina conduce a una disminución en el tejido adiposo abdominal y una reducción dentro del grupo en el contenido de lípidos hepáticos intracelulares y una sensibilidad a la insulina posprandial significativamente menor. Se produjo un deterioro significativo en la respuesta de glucosa posprandial en el grupo de control, que no se observó en el grupo de éster de propionato de inulina. No se observaron aumentos en PYY y GLP-1 en plasma durante el estudio de 24 semanas. Por lo tanto, el éster de propionato de inulina puede proteger contra la disminución de la homeostasis de la glucosa relacionada con el aumento de peso corporal.

Los presentes inventores también han descubierto que el éster de propionato de inulina y la inulina reducen varios factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes: por ejemplo, en el ensayo de control aleatorio de 24 semanas mencionado anteriormente, se observaron mejoras significativas en el colesterol total, LDL, HDL, alanina transaminasa, fosfatasa alcalina y aspartato transaminasa en el grupo de éster de propionato de inulina, y se observaron mejoras significativas en el colesterol, HDL, alanina transaminasa y fosfatasa alcalina en el grupo de control.

Se conocen algunos ésteres de inulina. Por ejemplo, la síntesis de ciertos ésteres de propionato de inulina se informa en el documento US 5.877.144. Los ésteres de propionato de inulina preferidos para usar en la invención tienen un grado de sustitución entre 0,1 y 1,2, preferentemente entre 0,2 y 1, preferentemente entre 0,55 y 1, más preferentemente entre 0,6 y 1, lo más preferentemente entre 0,7 y 0,9.

Los inventores han investigado posibles mecanismos fisiológicos detrás de los efectos observados.

Usando un éster de propionato de inulina marcado isotópicamente, los inventores actuales han observado que el propionato de inulina facilita el suministro de propionato al intestino grueso. La inulina es un hidrato de carbono no digerible. La inulina se une al propionato mediante un enlace de éster que no se escinde en el estómago o el tracto gastrointestinal superior. Solo es escindible por fermentación bacteriana en el colon. En el colon, el propionato se libera de la inulina. Los resultados de los experimentos con isótopos estables mostraron que > 80 % de la carga de propionato del éster de propionato se libera en el colon. Se ha informado previamente que algunos hidratos de carbono pueden usarse como transportadores de ácidos grasos de cadena corta (véase, por ejemplo, el documento US

5.840.860). El uso específico de inulina para transportar propionato no se ha informado previamente.

Los inventores también han descubierto que el propionato de sodio indujo la estimulación de la liberación de PYY en células colónicas aisladas. En seres humanos, se demostró que los niveles de PYY en el plasma aumentaban con un mayor grado de sustitución del propionato del éster de propionato de inulina. Se postula que la liberación de PYY después del suministro de propionato al colon puede estar involucrada en la reducción de la ingesta de alimentos observada.

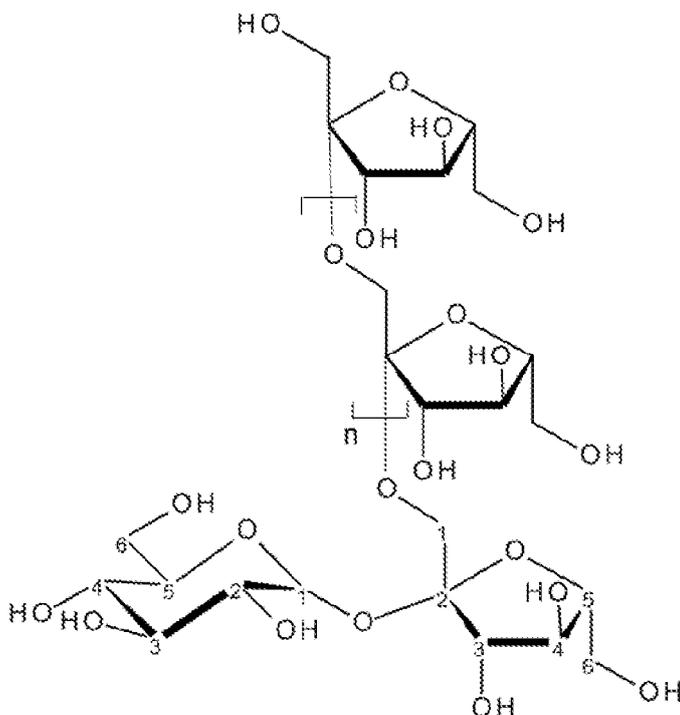
Parece que el propionato liberado puede estar involucrado en la reducción de la ingesta de alimentos. Dado el conocimiento actual sobre los efectos del propionato en seres humanos, sería un hallazgo sorprendente: por ejemplo, una revisión de Darzi *et al* [Darzi, J. et al, Proc. Nutr. Soc. (2011) Vol. 70, páginas 119-128], que consideró algunos informes de que el propionato podría tener un efecto en la ingesta de alimentos, concluyó que puede no haber un papel del propionato en la regulación del apetito. En cambio, sugieren que los resultados de algunos estudios anteriores en los que se sugirió la reducción de la ingesta de alimentos se debieron a la falta de palatabilidad del propionato y a los alimentos dopados con propionato. En sus propios estudios, informado en la misma revisión, Darzi *et al* eliminaron la palatabilidad como factor y mostraron que el propionato administrado por vía oral no tuvo efecto del apetito o la ingesta de alimentos. Otra revisión de Al-Lahham *et al* [Al-Lahham, S. H., et al, Biochem. Biophys. Acta. (2010), vol. 1801, páginas 1175 - 1183], revisó los efectos biológicos del ácido propiónico en seres humanos. La revisión sugiere que el ácido propiónico puede ser beneficioso para reducir la ingesta de alimentos y mejorar la saciedad, pero que es posible que este efecto se deba a la aversión alimentaria o náuseas y molestias.

Por lo tanto, si bien en algunos estudios se ha observado que el propionato libre administrado por vía oral ha causado cierta reducción en la ingesta de alimentos o el apetito, los efectos se han atribuido principalmente a la palatabilidad reducida de los alimentos que contienen propionato (es muy ácido) en combinación con los efectos secundarios de molestias y náuseas al tomar el propionato libre. El ácido propiónico oral se absorbe en el intestino delgado proximal.

Parece que la invención de los inventores actuales permite que el propionato se administre al intestino grueso y que allí ejerza su efecto reductor del apetito. Se requerirán más estudios, para agregar certeza a este mecanismo postulado.

Compuestos

Las inulinas tienen la fórmula general:



Las inulinas para su uso en la invención están compuestas preferentemente de unidades de fructosa conectadas por enlaces β (2 \rightarrow 1), y generalmente están terminadas por una unidad de glucosa. Las inulinas se pueden extraer de la achicoria (*Cichorium intybus*), alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) u otras fuentes de inulinas, por ejemplo, Elecampana (*Inula helenium*), echinacea (*Echinacea* spp.), diente de león (*Taraxacum officinale*), ñame silvestre

(Dioscorea spp.), jícama (Pachyrhizus erosus), bardana (Arctium lappa), Costus Saussurea lappa, artemisa (Artemisia vulgaris), cebolla (Allium cepa), ajo (Allium sativum), agave (Agave spp.), bane leopardo (Arnica montana), yacón (Smallanthus sonchifolius spp.), camas (Camassia spp.) o plátano. También se pueden usar inulinas sintéticas.

5 Preferentemente, una inulina adecuada para su uso en la invención se extrae de achicoria o alcachofa de Jerusalén, y lo más preferentemente achicoria. Un ejemplo de una fuente comercialmente disponible de inulina de achicoria es Orafiti® HP de Beneo-Orafti Food Ingredients, Tienen, Bélgica.

10 El grado de polimerización (el número de unidades de monosacáridos acopladas entre sí) de la inulina está entre 2 y varios miles. Preferentemente, el grado de polimerización está entre 2 y 60, y más preferentemente entre 3 y 60. El grado medio de polimerización de la inulina de la invención está preferentemente entre 20 y 30, más preferentemente entre 23 y 27 y lo más preferentemente 25.

15 La inulina es un hidrato de carbono no digerible. En los seres humanos no puede ser digerida en el estómago o el intestino delgado bajo la influencia de enzimas, pero requiere la presencia de bacterias en el intestino grueso/colon. La invención es aplicable a cualquier inulina u oligofructosa que no pueda ser digerida en el estómago o el intestino delgado.

20 El propionato tiene la fórmula $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2^-$. El correspondiente ácido carboxílico, el ácido propiónico tiene la fórmula $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$.

25 Los expertos en la materia de la química orgánica apreciarán que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes con los que se hacen reaccionar o de los que precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como "solvatos". Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como un "hidrato". El ácido libre o una sal del principio activo se puede proporcionar como un solvato.

Métodos de preparación de ésteres de propionato de inulina

30 Los ésteres de propionato de inulina para su uso en la invención pueden prepararse en condiciones acuosas, de la siguiente manera: La inulina se disuelve en agua, por ejemplo, de 20 a 80 °C. La concentración de la solución resultante es preferentemente entre 0,2 y 4 moles de equivalentes de fructosa por litro, más preferentemente entre 1 y 2 moles de equivalentes de fructosa por litro, y lo más preferentemente entre 1,2 y 1,6 moles de equivalentes de fructosa por litro. La temperatura de la solución resultante se reduce preferentemente a entre 10 y 20 °C. Anhídrido propiónico y una base metálica, preferentemente una base acuosa de metal alcalino, más preferentemente un hidróxido metálico, por ejemplo, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, se agregan a la solución de inulina, preferentemente manteniendo el templado entre 10 y 20 °C y el pH de la solución entre pH 8 y 8,5. La base está preferentemente en solución acuosa de entre 10 y 100 % p/v, preferentemente entre 20 y 100 % p/v, más preferentemente entre 20 y 40 % p/v y lo más preferentemente 25 % p/v y se agrega gota a gota a la solución de inulina. Variando la relación de anhídrido propiónico a inulina produce un grado variable de sustitución. El número de moles de anhídrido propiónico que se agregarán a la inulina se calcula como: moles de equivalentes de unidades de fructosa x grado de sustitución objetivo x 1,25. La Tabla 1 muestra relaciones de ejemplo que se deben utilizar.

Grado objetivo de esterificación (d_e)	Relación de anhídrido propiónico: Inulina (mol/mol)
0,2	0,25 : 1
0,5	0,625 : 1
0,8	1 : 1
1,0	1,25 : 1

45 Esta síntesis es adecuada para la síntesis de ésteres de propionato de inulina con un grado de sustitución entre 0,05 y 3,0. Preferentemente, esta síntesis se utiliza para la síntesis de ésteres de propionato de inulina con un grado de sustitución entre 0,1 y 2,0, más preferentemente entre 0,1 y 1,5, y lo más preferentemente para la síntesis de ésteres de propionato de inulina con un grado de sustitución entre 0,1 y 1.

50 En el presente documento se describen ésteres de propionato de inulina que se pueden preparar disolviendo inulina en agua a una temperatura entre 20 y 80 °C para dar una concentración de entre 1 y 2 moles de equivalentes de fructosa por litro, bajando la temperatura de la solución a entre 10 y 20 °C, añadiendo anhídrido propiónico y una base metálica acuosa con una concentración entre 20 y 100 % p/v a la solución mientras se mantiene el templado de la solución entre 10 y 20 °C y el pH de la solución entre pH 8 y 8,5; para dar el grado deseado de sustitución, el número de moles de anhídrido propiónico añadido a la inulina se calcula como: número de moles de unidades equivalentes de fructosa en solución x grado de sustitución objetivo x 1,25.

Los ésteres de propionato de inulina para usar en la invención pueden sintetizarse en disolventes orgánicos, tales

como disolventes apróticos polares, por ejemplo, pero sin limitación, N, N'-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, dimetilformamida, usando una metodología de reacción similar a la reacción acuosa, pero donde el agua es sustituida por disolvente.

- 5 Preferentemente, los propionatos de inulina de la invención se sintetizan en condiciones acuosas.

Los ésteres de propionato de inulina sintetizados según el método acuoso anterior pueden purificarse para eliminar el propionato libre, lo que mejora su palatabilidad y reduce los posibles efectos secundarios de la ingestión de propionato libre. Preferentemente, la purificación se lleva a cabo usando columnas de carbón activado en condiciones ácidas seguidas de secado por pulverización. Por ejemplo, después de completar la síntesis como se describió anteriormente, o para éster de propionato de inulina disuelto en agua para dar una solución con una concentración de entre 0,2 y 4 moles de equivalentes de fructosa por litro, más preferentemente entre 1 y 2 moles de equivalentes de fructosa por litro, y lo más preferentemente entre 1,2 y 1,6 moles de equivalentes de fructosa por litro, la mezcla o solución de reacción se ajusta entre pH 1,5 y pH 3,5, más preferentemente entre pH 2 y pH 3 y lo más preferentemente hasta pH 2, con ácido fuerte concentrado, por ejemplo un ácido inorgánico fuerte, por ejemplo, HCl. Inmediatamente después de la adición de ácido, la mezcla de reacción se deja fluir a través de una columna de carbón activado que se ha lavado y acondicionado completamente con ácido fuerte entre 0,05 y 0,5 M, preferentemente entre 0,1 y 0,3 M de ácido fuerte, lo más preferentemente 0,2 M de ácido fuerte, por ejemplo un ácido inorgánico fuerte, por ejemplo, HCl. Se deja que el éster de propionato de inulina fluya a través de la columna a aproximadamente 1 l/h. El tamaño de la columna de carbón vegetal se selecciona en función del número de moles de equivalentes de fructosa en la solución, por ejemplo, para una solución de 2 l que contiene aproximadamente 2,8 moles de unidades de fructosa, una columna que contiene ~ 1 kg de carbón activado es adecuada. El carbón activado tiene una mayor afinidad y capacidad de captación para el ácido propiónico en comparación con la forma aniónica: propionato. La mezcla de reacción recuperada de la columna se ajusta a pH 2 con ácido fuerte concentrado, por ejemplo un ácido inorgánico fuerte, por ejemplo HCl, y pasa a través de una segunda columna de carbón activado preparada de manera idéntica o similar a la primera columna. La mezcla de reacción se recoge y se ajusta a pH 2 antes del secado por pulverización (Buchi, Oldham UK) en un flujo de gas N₂ inerte. El flujo de líquido, la temperatura del gas y del nebulizador se controla de modo que se mantenga una temperatura de salida de alrededor de 100 °C.

- 30 Preferentemente, los ésteres de propionato de inulina para usar en la invención se purifican a un nivel de propionato libre en el éster de propionato de inulina de menos del 1 % pero preferentemente completamente libre de propionato no unido.

La invención proporciona un método para purificar un éster de propionato de inulina, que comprende la disolución de éster de propionato de inulina en agua, ajustando el pH de la solución a alrededor de pH 2 con ácido fuerte concentrado, haciendo pasar la solución por una columna de carbón activado lavada y acondicionada con ácido fuerte 0,2 M, recuperando la solución de la columna, ajustando alrededor de pH 2 con ácido fuerte concentrado, pasando la solución a través de una segunda columna lavada de carbón activado y acondicionada con ácido fuerte 0,2 M, recuperando la solución de la columna, ajustando alrededor de pH 2 con ácido fuerte concentrado y secado por pulverización.

La purificación del éster de propionato de inulina también se puede lograr mediante diálisis. La purificación por diálisis en tubos de diálisis es particularmente eficaz; preferentemente la diálisis es por un período de entre 1 y 5 días, más preferentemente 3 días. La diálisis se puede usar para eliminar cualquier impureza de sal y eliminar el propionato libre a un nivel de <1 % del propionato total disponible después de la desesterificación completa. Un ejemplo de tubo de diálisis adecuado es Spectra/Por 6, 1000 MWCO de Spectrum Europe BV, Breda, Países Bajos. Por ejemplo, después de 3 días de diálisis en tubos de diálisis, esto da como resultado un éster de propionato de inulina que es casi insípido cuando se disuelve en agua e indetectable cuando se disuelve en zumo de fruta.

50 El sabor del propionato conduce a una palatabilidad reducida. Después de la purificación por diálisis, el sabor del propionato libre es muy bajo y se puede enmascarar fácilmente con otros sabores. Esto conduce a una mayor palatabilidad, lo que puede conducir a un mayor nivel de cumplimiento del paciente. También reduce la posibilidad de efectos secundarios derivados de la ingestión de propionato libre residual, particularmente cuando se ingiere una gran dosis de éster de propionato de inulina.

55 En el presente documento se describe un éster de propionato de inulina con un grado de sustitución de 0,55 a 1. El documento US 5.877.144 describe la síntesis de ésteres de propionato de inulina de grado de sustitución = 0,5.

60 En el presente documento se describe un éster de propionato de inulina con d_e entre 0,55 y 1,0. Tales ésteres de propionato de inulina se pueden preparar disolviendo inulina en agua, por ejemplo, entre 70 y 80 °C para dar una concentración de entre 1 y 2 moles de equivalentes de fructosa por litro, bajando la temperatura de la solución a entre 10 y 20 °C, añadiendo anhídrido propiónico y una base acuosa de metal alcalino con una concentración entre 20 y 100% p/v a la solución mientras se mantiene la temperatura de la solución entre 10 y 20 °C y el pH de la solución entre pH 8 y 8,5; para dar el grado deseado de sustitución, el número de moles de anhídrido propiónico añadido a la inulina se calcula como: número de moles de equivalentes de unidades de fructosa en solución x grado de sustitución objetivo x 1,25, con el grado objetivo mínimo de sustitución = 0,55 y el grado objetivo máximo de sustitución = 1. Es importante

que la temperatura y el pH se controlen dentro de los límites mencionados anteriormente, ya que influyen en la mezcla de reactivos y son necesarios para controlar el grado de esterificación.

Composiciones

5 Aunque es posible que el principio activo se administre en solitario, es preferible que esté presente en una formulación o composición farmacéutica, o que se administre por vía oral como un aditivo directo a los alimentos.

10 La invención proporciona una composición farmacéutica para administración oral que comprende un éster de propionato de inulina y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un éster de propionato de inulina, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en la reducción del apetito, ingesta de alimentos y/o ingesta de calorías y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina, o para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad o la diabetes. La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un éster de propionato de inulina, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para su uso en la reducción del apetito, ingesta de alimentos y/o ingesta de calorías, y/o para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad.

20 Las formulaciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la invención incluyen aquellas adecuadas para administración oral. La vía más adecuada puede depender de, por ejemplo, la dolencia y el trastorno del receptor.

25 Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria y se pueden preparar por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Todos los métodos incluyen la etapa de asociar el principio activo con el transportador que constituye uno o más ingredientes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme y estrecha el principio activo con transportadores líquidos o transportadores sólidos finamente divididos, o ambos, y después, si es necesario, dar forma al producto en la formulación deseada.

30 Las formulaciones adecuadas para administración oral (por ejemplo, por ingestión) pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, obleas o comprimidos, conteniendo, cada uno, una cantidad predeterminada del principio activo; en forma de polvo o gránulos; en forma de una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o en forma de una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite. El principio activo también puede presentarse en forma de un bolo, electuario o pasta. Varios transportadores farmacéuticamente aceptables y su formulación se describen en tratados de formulación estándar, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences por EW Martin. Véase también Wang, Y.J. y Hanson, M. A., Journal of Parenteral Science and Technology, Informe Técnico n.º. 10 (Sup. 42):2S, 1988.

40 Un comprimido puede prepararse por compresión o moldeado, de manera opcional con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos preparados por compresión pueden prepararse prensando en una máquina adecuada el principio activo en forma fluida como polvo o gránulos, mezclados de forma opcional con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente de lubricación, tensioactivo o agente de dispersión. Un ejemplo de un excipiente adecuado es la inulina. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar mediante moldeo en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse o ranurarse y pueden formularse de forma que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo desde el mismo. Los presentes compuestos pueden, por ejemplo, administrarse en una forma adecuada para liberación inmediata o liberación prolongada. La liberación inmediata o liberación prolongada se pueden conseguir mediante el uso de composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden los presentes compuestos. Los presentes compuestos también se pueden administrar por vía liposómica.

50 Las composiciones ilustrativas para administración oral incluyen suspensiones que pueden contener, por ejemplo, celulosa microcristalina para transmitir volumen, ácido algínico o alginato de sodio como agente de suspensión, metilcelulosa como potenciador de la viscosidad, y edulcorantes o aromatizantes tal como se conoce en la técnica; y comprimidos de liberación inmediata que pueden incluir, por ejemplo, celulosa microcristalina, fosfato de dicalcio, almidón, estearato de magnesio y/o lactosa y/u otros excipientes, aglutinantes, extensores, disgregantes, diluyentes y lubricantes tales como los conocidos en la técnica. El compuesto también se puede administrar mediante la cavidad oral mediante administración sublingual y/o bucal. Los comprimidos moldeados, los comprimidos preparados por compresión, o comprimidos criodesecados son formas ilustrativas que se pueden utilizar. Las composiciones ilustrativas incluyen las que forman uno o más compuestos presentes con diluyentes de disolución rápida tales como manitol, lactosa, sacarosa y/o ciclodextrinas. En dichas formulaciones también se incluyen excipientes de elevado peso molecular tales como celulosas (avicel) o polietilenglicoles (PEG). Dichas formulaciones también pueden incluir un excipiente para ayudar en la adhesión a la mucosa tal como hidroxipropilcelulosa (HPC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa sódica (SCMC), copolímero de anhídrido maleico (por ejemplo, Gantrez), y agentes que controlan la liberación tal como copolímero poliacrílico (por ejemplo, Carbolpol 934). Lubricantes, emolientes, aromatizantes, agentes colorantes y estabilizadores también se pueden añadir para facilitar la fabricación y el uso.

65 El propionato de inulina se puede proporcionar como una composición seca, por ejemplo, en forma de polvo o gránulos. Puede usarse para la preparación de una solución o una suspensión para administración. También se puede usar una

composición en forma de concentrado o suspensión para la preparación de una solución para administración. Una composición adecuada para preparar una solución, por ejemplo, una forma de polvo o gránulo o concentrado o suspensión, puede incluir un agente saborizante. Se puede proporcionar una composición en una cantidad para la preparación de una dosis unitaria de una cantidad terapéuticamente eficaz, por ejemplo, una dosis entre 50 ml y 1 l, por ejemplo, una dosis de 500 ml. La invención proporciona una composición para una mezcla con agua. La invención proporciona además una composición seca, por ejemplo, una forma de polvo o gránulo, para mezclar con un producto alimenticio.

Una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso. La solución puede incluir un agente saborizante y/o agente conservante.

Un aromatizante para su uso en composiciones de la invención debería, si procede, enmascarar cualquier sabor salado y/o ácido, y ser estable en la composición. Un saborizante hace que las soluciones sean más sabrosas y, por lo tanto, ayuda al cumplimiento del paciente. Los aromatizantes preferidos incluyen naranja, limón, fresa, pomelo, grosella negra, vainilla y limón y lima.

Si se toma más de una unidad por dosis, cada unidad puede estar en la misma o diferentes formas físicas. Si se toma más de una dosis por día, cada dosis puede estar en la misma o en diferentes formas físicas. Los componentes dentro de cada una de las dos o más composiciones pueden estar en la misma o diferentes formas físicas. Las formulaciones en dosis unitarias preferidas son aquellas que contienen una dosis eficaz, como se menciona a continuación, o una fracción apropiada del mismo, del principio activo.

El principio activo puede administrarse adecuadamente en un sistema de liberación sostenida. Ejemplos adecuados de sistemas de liberación sostenida incluyen materiales poliméricos adecuados, por ejemplo, matrices de polímeros semipermeables en forma de artículos conformados, por ejemplo, películas o microcápsulas; materiales hidrófobos adecuados, por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable; o resinas de intercambio iónico; y derivados escasamente solubles del compuesto, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble. Los sistemas de liberación sostenida pueden administrarse por vía oral o como un aerosol oral.

Aunque generalmente no es necesario para su uso con la invención, las preparaciones para la administración pueden formularse adecuadamente para proporcionar una liberación controlada de un compuesto. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de partículas que comprenden uno o más polímeros biodegradables, polímeros gelificantes y/o bioadhesivos de polisacáridos, polímeros anfífilos, agentes capaces de modificar las propiedades de interfaz de las partículas del éster de propionato de inulina. Estas composiciones exhiben ciertas características de biocompatibilidad que permiten una liberación controlada de la sustancia activa. Véase la Patente de los Estados Unidos N.º 5.700.486.

Un enfoque alternativo para el suministro de éster de propionato de inulina por vía oral es incorporarlo en un alimento que de otro modo sería normal. Por ejemplo, podría incorporarse en un alimento que un sujeto podría comer durante una comida principal, por ejemplo, un cereal o pan de desayuno, o que un sujeto pueda comer como refrigerio durante el día, por ejemplo, una galleta o chocolate. Al administrar éster de propionato de inulina como parte de una comida, es posible inducir el apetito reducido deseado en la próxima comida, u otra comida más tarde en el día, o una comida tomada al día siguiente. Por ejemplo, la comida con éster de propionato de inulina incorporado se comería beneficiosamente de 3 a 10 horas antes de la comida posterior, preferentemente entre 4 y 8 horas antes de la comida posterior. Esto hará que el sujeto se contente con una porción más pequeña de la comida posterior, o hará que el sujeto coma una cantidad más pequeña de una porción normal.

El éster de propionato de inulina se incorpora a un nivel que proporciona al sujeto una dosis reductora del apetito cuando consume la totalidad (o una porción habitual) de los alimentos en cuestión. Un alimento que incorpora una dosis reductora del apetito de éster de propionato de inulina puede denominarse un alimento funcional. Los ejemplos de alimentos a los que se puede agregar éster de propionato de inulina incluyen, productos horneados (por ejemplo, pan), productos de confitería, leche, yogurt y queso fresco, chocolate, helado, salsas, preparaciones de frutas o para la preparación de jarabes de fructosa. El éster de propionato de inulina puede usarse como un sustituto de la inulina en alimentos que podrían incorporar o normalmente incorporarían inulina. El éster de propionato de inulina también se puede agregar a la inulina, y se puede usar una mezcla de inulina y éster de propionato de inulina como sustituto del uso de inulina sola en alimentos que podrían incorporar o normalmente incorporarían inulina.

Combinaciones

En una realización, el principio activo se administra con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro agente, por ejemplo, un supresor del apetito adicional, un agente reductor de la ingesta de alimentos adicional, un agente reductor de glucosa en plasma o un agente alterador de lípidos en plasma. Los ejemplos específicos de un supresor del apetito adicional incluyen amfepramona (dietilpropión), fentermina, mazindol y fenilpropanolamina, fenfluramina, dexfenfluramina y fluoxetina. El principio activo en el uso de la invención puede administrarse simultáneamente con el supresor del apetito adicional, o puede administrarse secuencialmente.

Por lo tanto, la invención proporciona, en una realización, una composición que comprende

- un éster de propionato de inulina, y
- un supresor del apetito adicional.

5

Dicha composición se proporciona para su uso como medicamento, por ejemplo, para su uso como medicamento para el tratamiento o prevención de la obesidad o diabetes, por ejemplo, la obesidad.

La invención también proporciona un kit que comprende:

10

- un éster de propionato de inulina, y
- un supresor del apetito adicional,

los dos (o más) componentes son para coadministración simultáneamente, separada o secuencialmente.

15

Dosis

La cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto que debe administrarse depende del éster de propionato de inulina utilizado (incluida la inulina específica, el grado de sustitución del propionato), del sujeto que se está tratando, la gravedad y el tipo de la afección, y la forma y vía de administración.

20

Considerando la cantidad de éster de propionato de inulina que se administra, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 0,1 mg por kilogramo (kg) de peso corporal a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 1 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 10 mg a aproximadamente 180 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 20 mg a aproximadamente 150 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 60 mg a aproximadamente 125 mg por kg de peso corporal. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 40 g, por ejemplo, de aproximadamente 80 mg a aproximadamente 20 g, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 12 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 10 g.

25

30

Para la administración oral, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 20 g, por ejemplo, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 20 g, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 20 g, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 10 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 10 g, por ejemplo, de 500 mg a 5 g, por ejemplo de 500 mg a 2 g, por ejemplo, de 1 g a 15 g, por ejemplo, de 1 g a 10 g, por ejemplo, de 1 g a 8 g, por ejemplo, de 1 g a 2 g, por ejemplo, de 1 g a 4 g, por ejemplo, de 2 g a 4 g, por ejemplo, de 2 g a 6 g, por ejemplo, de 4 g a 8 g, por ejemplo, de 4 g a 6 g, por ejemplo, de 5 g a 10 g, por ejemplo, de 6 g a 10 g, por ejemplo, de 6 g a 8 g, por ejemplo, de 8 g a 12 g, por ejemplo, de 8 g a 10 g, por ejemplo, de 10 g a 14 g, por ejemplo, de 10 g a 12 g, por ejemplo, de 10 g a 20 g. En una realización preferida, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 50 g, por ejemplo de 10 mg a aproximadamente 30 g, por ejemplo, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 30 g, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 30 g, por ejemplo de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g o, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 15 g. En otra realización preferida, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 1 g a 50 g, por ejemplo, de 5 g a 50 g, por ejemplo, de 10 g a 40 g, por ejemplo, de 1 g a 30 g, por ejemplo, de 5 g a 30 g, por ejemplo, de 3 g a 25 g, por ejemplo, de 1 g a 20 g, por ejemplo, de 5 g a 20 g, por ejemplo, de 1 g a 10 g, por ejemplo, de 20 g a 30 g, por ejemplo, de 30 g a 40 g, o por ejemplo, de 5 g a 15 g. Las dosis específicas que se pueden mencionar son 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5 y 15,0, especialmente 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5 y 12,0 g.

35

40

45

50

Cada dosis de una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser varias dosis unitarias. Una sola dosis unitaria sólida puede contener, por ejemplo, de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 3 g, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2 g, por ejemplo, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 2 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 2 g, por ejemplo, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 1 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 1 g, por ejemplo, 100 mg a 500 mg, por ejemplo, 100 mg a 1 g, por ejemplo, 100 mg a 2 g, por ejemplo, 250 mg a 2 g, por ejemplo, 250 mg a 1 g, por ejemplo, 500 mg a 2 g, por ejemplo, 500 mg a 1 g, por ejemplo, 1 g a 3 g, por ejemplo 1 g a 2 g. Las dosis unitarias específicas que se pueden mencionar son 0,1, 0,25, 0,5, 0,6, 0,75, 0,8, 1,0, 1,25, 1,5, 1,75, 2,0, 2,25, 2,5, 2,75 y 3,0 g.

55

60

Una sola dosis unitaria seca adecuada para disolución o adición a un líquido, o para disolución o adición a un alimento, o una dosis en solución o dosis concentrada o dosis de suspensión, puede contener, por ejemplo, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 250 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 10 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 5 g, por ejemplo, de aproximadamente 500 mg a aproximadamente 3 g, por ejemplo, 100 mg a 1 g, por ejemplo, 100 mg a 3 g, por ejemplo, 1 g a 15 g, por ejemplo, 1

65

g a 10 g, por ejemplo, 1 g a 5 g, por ejemplo, 1 g a 3 g, por ejemplo, 1 g a 2 g, por ejemplo, 2 g a 10 g, por ejemplo, 2 g a 5 g, por ejemplo, 5 g a 15 g, por ejemplo, 5 g a 10 g, por ejemplo, 250 mg a 1.5 g, por ejemplo 2 g a 4 g, por ejemplo, 2 g a 6 g, por ejemplo, 4 g a 6 g, por ejemplo, 4 g a 8 g, por ejemplo, 6 g a 8 g, por ejemplo, 6 g a 10 g, por ejemplo, 8 g a 10 g, por ejemplo, 8 g a 12 g, por ejemplo, 10 g a 12 g, por ejemplo, 10 g a 14 g, por ejemplo, 15 g a 20 g. Las dosis unitarias específicas que se pueden mencionar son 0,25, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5, 8,0, 8,5, 9,0, 9,5, 10,0, 10,5, 11,0, 11,5, 12,0, 12,5, 13,0, 13,5, 14,0, 14,5, 15,0, 15,5, 16,0, 16,5 y 17,0.

Se pueden administrar las cantidades de dosis discutidas anteriormente, por ejemplo, una vez, dos veces, tres veces o cuatro veces al día o una o dos veces por semana. Por ejemplo, para la administración oral, se puede administrar una dosis diaria total de 30 mg a aproximadamente 120 g, por ejemplo, de aproximadamente 240 mg a aproximadamente 60 g, por ejemplo, de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 45 g, por ejemplo, de aproximadamente 3 g a aproximadamente 36 g o por ejemplo de aproximadamente 15 g a aproximadamente 30 g. En una realización preferida, la dosis diaria total para administración oral es, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 50 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 30 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 30 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 25 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 15 g o por ejemplo, aproximadamente 10 g. En otra realización preferida, la dosis diaria total para administración oral es, por ejemplo, de aproximadamente 3 g a aproximadamente 50 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 40 g, por ejemplo, de aproximadamente 8 g a aproximadamente 30 g, por ejemplo, de aproximadamente 10 g a aproximadamente 25 g, por ejemplo, de aproximadamente 10 g a aproximadamente 20 g, por ejemplo, aproximadamente 12 g a aproximadamente 18 g o por ejemplo, aproximadamente 15 g.

De acuerdo con cierta realización, se puede administrar una dosis una vez entre 4 y 10 horas antes de cada comida a tomar. Se desea administrar una dosis entre 4 y 10 antes del efecto (por ejemplo, supresión del apetito, se desea disminuir la ingesta de alimentos y/o disminuir la ingesta calórica y/o mejorar la sensibilidad a la insulina), tal como, entre 4 y 10 horas, entre 5 y 9 horas, entre 6 y 8 horas, aproximadamente 4 horas, aproximadamente 5 horas, aproximadamente 6 horas, aproximadamente 7 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 9 horas o aproximadamente 10 horas antes del momento en que se desea el efecto, por ejemplo, en esos momentos antes de una comida. Cuando el éster de propionato de inulina se administra como "alimento funcional", la dosis puede administrarse como parte de la comida, o como un refrigerio tomado aproximadamente de 3 a 10 horas, preferentemente, de aproximadamente 4 a 10 horas, y más preferentemente, de aproximadamente 4 a 8 horas, antes de la comida posterior que se tomará cuando se desee el efecto.

En una realización, se administra una dosis tres veces al día, por ejemplo, tres veces a partir de aproximadamente 4 horas a 10 horas antes de una comida, o durante cada comida como parte de la comida para tener un efecto en otra comida tomada más tarde ese día o al día siguiente. En esa realización, la dosis diaria total puede ser de aproximadamente 0,3 mg por kilogramo (kg) de peso corporal a aproximadamente 1,5 por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 3 mg a aproximadamente 750 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 30 mg a aproximadamente 540 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 60 mg a aproximadamente 450 mg por kg de peso corporal, por ejemplo, aproximadamente 180 mg a aproximadamente 375 mg por kg de peso corporal. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 120 g, por ejemplo, de aproximadamente 240 mg a aproximadamente 60 g, por ejemplo, de aproximadamente 300 mg a aproximadamente 45 g, por ejemplo, de aproximadamente 3 g a aproximadamente 36 g, por ejemplo, de aproximadamente 15 g a aproximadamente 30 g.

En una realización, una dosis se administra como parte de una comida o merienda. Un ejemplo de una parte de una comida o una merienda puede ser dos rebanadas de pan. En esa realización, dos rebanadas de pan pueden contener de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 12 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 10 g de éster de propionato de inulina. Un ejemplo de una merienda puede ser una galleta. En esa realización, una galleta puede contener de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 12 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 10 g de éster de propionato de inulina. En otro ejemplo, en una comida o merienda que contenga harina como ingrediente, en esa comida o merienda de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 12 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 10 g de la harina se reemplaza con el mismo peso de éster de propionato de inulina. En otro ejemplo, en una comida o merienda que contiene una salsa o que consta de una parte líquida o de gel, por ejemplo, salsa para pasta o yogurt, de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 15 g, por ejemplo, de aproximadamente 1 g a aproximadamente 12 g, por ejemplo, de aproximadamente 5 g a aproximadamente 10 g, de éster de propionato de inulina se mezcla en la salsa o parte líquida o en gel.

En una realización, una dosis se administra como parte de una comida o merienda o líquido, en donde el sujeto recibe una dosis seca para mezclar o combinar con la comida, merienda o líquido (por ejemplo, agua o zumo de fruta).

El éster de propionato de inulina de la invención encuentra un uso particular junto con una dieta hipocalórica. Muchos

sujetos tienen dificultades para adherirse a una dieta hipocalórica. La presente invención promueve la adherencia a una dieta hipocalórica.

Condiciones:

5 La invención proporciona un éster de propionato de inulina para uso en terapia para la reducción de uno o más de los siguientes en un sujeto:

- 10
- el apetito,
 - la ingesta de alimentos,
 - la ingesta de calorías,

y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina.

15 En consecuencia, la invención proporciona un éster de propionato de inulina para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad o diabetes. Por ejemplo, la invención proporciona un éster de propionato de inulina para su uso en el tratamiento o prevención de la obesidad.

20 De forma típica, el sujeto tiene sobrepeso o corre el riesgo de tener sobrepeso. La invención proporciona un éster de propionato de inulina, para la reducción del apetito en un sujeto, para su uso en la reducción de la ingesta de alimentos en un sujeto, o para la reducción de la ingesta de calorías en un sujeto. La invención proporciona además un éster de propionato de inulina para su uso en la mejora de la sensibilidad a la insulina.

25 El sujeto puede tener sobrepeso, por ejemplo, obeso. En determinadas realizaciones, el éster de propionato de inulina es para su uso en la reducción del apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina en un sujeto con sobrepeso, por ejemplo, obeso.

30 Como alternativa, o además, el sujeto puede ser diabético, por ejemplo, con resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa, o ambas. El sujeto puede tener diabetes mellitus, por ejemplo, el sujeto puede tener diabetes tipo 2. El sujeto puede tener sobrepeso, por ejemplo, obeso y diabetes mellitus, por ejemplo, diabetes tipo 2. En determinadas realizaciones, el éster de propionato de inulina es para su uso en la reducción del apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina en un sujeto que es diabético, quien tiene resistencia a la insulina y/o intolerancia a la glucosa.

35 La invención puede usarse para el control de peso y el tratamiento, por ejemplo, prevenir y reducir el aumento de peso; inducir y promover la pérdida de peso; y reducir la obesidad medida por el índice de masa corporal. La invención puede usarse en el control de uno o más de entre el apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías, en particular, uno o más de los siguientes: reducir, suprimir e inhibir el apetito; reducir, suprimir e inhibir la ingesta de alimentos; reducir, suprimir e inhibir la ingesta de calorías. Un compuesto de la invención puede usarse para mantener uno o más de un peso corporal deseado, un índice de masa corporal deseado, un aspecto deseado y buena salud.

40 Un sujeto puede ser un sujeto que desea perder peso, por ejemplo, un sujeto femenino o masculino que desea un cambio en su apariencia. Un sujeto puede desear disminuir la sensación de hambre, por ejemplo, el sujeto puede ser una persona involucrada en una tarea larga que requiere un alto nivel de concentración, por ejemplo, un soldado en servicio activo, un controlador de tránsito aéreo o un conductor de camión en una ruta de larga distancia.

La invención también proporciona un uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina para la reducción del apetito, ingesta de alimentos y/o ingesta de calorías en un sujeto.

50 En determinadas realizaciones, la invención proporciona un uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina para la reducción del apetito, la ingesta de alimentos y/o la ingesta de calorías en un sujeto sano (por ejemplo, con un IMC normal).

55 Además, o como alternativa, el sujeto puede tener, o puede estar en riesgo de tener, un trastorno en el que la obesidad o el sobrepeso es un factor de riesgo. Dichos trastornos incluyen, aunque no de forma limitativa, enfermedad cardiovascular, por ejemplo, hipertensión, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca congestiva y dislipidemia; apoplejía; enfermedad de la vesícula; artrosis; apnea del sueño; trastornos reproductivos, por ejemplo, síndrome de ovario poliquístico; cánceres, por ejemplo, cáncer de mama, de próstata, de colon, endometrial, de riñón y de esófago; venas varicosas; acantosis nigricans; eccema; intolerancia al ejercicio; resistencia a la insulina; hipertensión hipercolesterolemia; colitis; artrosis; lesión ortopédica; resistencia a la insulina, por ejemplo, diabetes tipo 2 y síndrome X; y enfermedad tromboembólica (véase Kopelman, P. G., *Nature* 404:635-43, 2000; Rissanen, A., *et al.*, *British Med. J.* 301:835, 1990).

65 Otros trastornos asociados con la obesidad incluyen depresión, ansiedad, ataques de pánico, dolores de cabeza de tipo migraña, PMS, estados de dolor crónico, fibromialgia, insomnio, impulsividad, trastorno obsesivo compulsivo y mioclono. Asimismo, la obesidad es un factor de riesgo reconocido para una mayor incidencia de complicaciones de

la anestesia general. (Véase, por ejemplo, Kopelman, Nature 404:635-43 (2000). En general, la obesidad reduce la vida útil y conlleva un grave riesgo de comorbilidades, como las mencionadas anteriormente.

5 Otras enfermedades o trastornos asociados con la obesidad son defectos de nacimiento, la obesidad materna está asociada con una mayor incidencia de defectos del tubo neural, síndrome del túnel carpiano (CTS); insuficiencia venosa crónica (CVI); somnolencia diurna; trombosis venosa profunda (DVT); enfermedad renal en etapa terminal (ESRD); gota; trastornos de calor; respuesta inmune deteriorada; alteración de la función respiratoria; esterilidad; hepatopatía; dolor lumbar; complicaciones obstétricas y ginecológicas; pancreatitis; así como hernias abdominales; acantosis nigricans; anomalías endocrinas; hipoxia crónica e hipercapnia; efectos dermatológicos; elefantitis; reflujo gastroesofágico; espuelas de talón; edema de las extremidades inferiores; anomalía (*mammegaly*) que causa problemas considerables como dolor en el tirante del sujetador, daño en la piel, dolor cervical, olores crónicos e infecciones en los pliegues de la piel debajo de los senos, etc.; grandes masas de la pared abdominal anterior, por ejemplo, paniculitis abdominal con paniculitis frecuente, impidiendo caminar, causando infecciones frecuentes, olores, dificultades para vestirse, lumbalgia; enfermedad musculoesquelética; pseudotumor cerebral (o hipertensión intracraneal benigna) y hernia hiatal deslizando. De acuerdo con determinadas realizaciones, el sujeto puede tener un peso no deseado a pesar de no ser obeso ni tener sobrepeso. Tal uso puede relacionarse con sujetos que anteriormente tenían sobrepeso u obesidad y que desean evitar el regreso a un peso no saludable. También puede relacionarse con sujetos con un estado prediabético como insensibilidad a la insulina o prediabetes. En algunos casos donde el sujeto tiene un peso normal, los aspectos de la invención pueden referirse al tratamiento cosmético más que al tratamiento terapéutico.

La invención también puede usarse para tratar, prevenir, mejorar o aliviar afecciones o trastornos causados por, complicados o agravados por una disponibilidad relativamente alta de nutrientes. El término "afección o trastorno que se puede aliviar mediante la reducción de la disponibilidad de calorías (o nutrientes)" se usa en el presente documento para indicar cualquier afección o trastorno en un sujeto que sean causados por, complicados o agravados por una disponibilidad relativamente alta de nutrientes, o que puede aliviarse reduciendo la disponibilidad de nutrientes, por ejemplo, disminuyendo la ingesta de alimentos. Los sujetos que son resistentes a la insulina, intolerantes a la glucosa, o tienen cualquier forma de diabetes mellitus, por ejemplo, diabetes tipo 1, 2 o gestacional, también pueden beneficiarse de métodos de acuerdo con la presente invención.

Las afecciones o trastornos asociados con una mayor ingesta calórica incluyen, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, obesidad, diabetes, incluyendo la diabetes tipo 2, trastornos de la conducta alimentaria, síndromes de resistencia a la insulina y enfermedad de Alzheimer.

El sujeto es preferentemente un ser humano. Sin embargo, el sujeto también puede ser otro vertebrado, por ejemplo, otros primates; animales de granja, por ejemplo, cerdos, ganado y aves de corral; animales deportivos, por ejemplo caballos; o animales de compañía, por ejemplo, perros y gatos.

Ejemplos

La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1a: Síntesis y caracterización de ésteres de propionato de inulina

50 Materiales y métodos

Métodos sintéticos

45 450 g de inulina (110,5 mmoles o 2,8 moles de equivalentes de fructosa, Orafti® HP de Beneo-Orafti Food Ingredients, Tienen, Bélgica: grado promedio de polimerización = 25; PM promedio = 4071 Da; nivel mínimo de polimerización = 3) se disolvieron en 2 l de agua desionizada y se transfirieron a un reactor con camisa de 3 l enfriado por agua con agitación superior y control continuo del pH y se dejó enfriar a ~ 25 °C. Se colocaron 360 g de anhídrido propiónico (2,8 moles) y 550 ml de NaOH al 25 % p/v en embudos cuentagotas sobre el reactor. El pH se ajustó a 8,25 mediante la adición gota a gota de NaOH y la adición de anhídrido propiónico comenzó cuando la temperatura en la mezcla de reacción era < 20 °C. La velocidad de adición de reactivos fue tal que el pH permaneció entre 8 y 8,5 y la temperatura se mantuvo < 20 °C. Variando la relación de anhídrido propiónico a inulina, como sigue, productos producidos de d_e variados:

Grado objetivo de esterificación (d_e)	Relación de anhídrido propiónico: Inulina (mol/mol de equivalentes de fructosa)	Grado de esterificación del producto observado (d_e)
0,2	0,25 : 1	0,18
0,25	0,31 : 1	0,23

(continuación)

Grado objetivo de esterificación (d_e)	Relación de anhídrido propiónico: Inulina (mol/mol de equivalentes de fructosa)	Grado de esterificación del producto observado (d_e)
0,5	0,625 : 1	0,46
0,8	1 : 1	0,74
1,0	1,25 : 1	0,92

Una vez que se completó la adición, la mezcla de reacción se dejó estabilizar a pH y luego se ajustó a pH 2 con HCl concentrado. Inmediatamente, la mezcla de reacción se dejó fluir a través de una columna de carbón que se había lavado a fondo y se había acondicionado con HCl 0,2 M. La columna contenía ~ 1 kg de carbón activado y se dejó que fluyera a aproximadamente 1 l/h. El carbón activado tiene una mayor afinidad y capacidad de captación para el ácido propiónico en comparación con la forma aniónica: propionato. La mezcla de reacción recuperada de la columna se ajustó a pH 2 con HCl concentrado y se pasó a través de una segunda columna preparada de manera idéntica a la primera columna. La mezcla recogida final se recogió y se ajustó nuevamente a pH 2 antes de secar por pulverización (Buchi, Oldham, Reino Unido) en un flujo de gas N₂ inerte. El flujo de líquido, la temperatura del gas y del nebulizador fue tal que se mantuvo una temperatura de salida de 100 °C.

Caracterización del éster de propionato de inulina

15 Caracterización química

Espectroscopía infrarroja

Espectros infrarrojos (FT-IR, Perkin Elmer, Cambridgeshire, Reino Unido) se grabaron utilizando discos KBr.

20

Análisis del contenido de propionato por GC-FID

Se disolvieron 100 mg de producto de éster de propionato de inulina en 2 ml de agua que contenía ácido butírico 1 mM como patrón interno (IS). Para cuantificar el propionato libre, se trataron 200 µl de la solución con 100 µl de ácido ortofosfórico concentrado seguido inmediatamente por extracción con éter (1 ml). Para cuantificar el propionato total (libre + unido), otros 200 µl de la solución se trataron con 100 µl de ácido ortofosfórico concentrado y se calentaron a 80 °C durante 1 hora antes de extraerse con 1 ml de éter. Los extractos de éter se decantaron para limpiar los viales listos para el análisis por cromatografía de gases (GC). El propionato y el butirato se cuantificaron mediante análisis de GC (HP5790, Palo Alto, EE. UU.) utilizando una columna ZB-WAX (30 m x 0,32 mm x 0,25 µm; Phenomenex, Cheshire UK) y He como gas portador (1,8 ml/min) en inyección de división (~ 50: 1 relación de división). El programa de temperatura comenzó a 40 °C y se mantuvo durante 1 minuto antes de aumentar a 10 °C/min a 200 °C. La detección se realizó mediante detección de ionización de llama (FID). Los patrones externos se ejecutaron diariamente para calcular el factor de respuesta de FID y las relaciones de área pico extraídas en una hoja de cálculo Excel para el procesamiento de datos. La concentración de propionato se calculó en relación con el IS y el rendimiento de propionato libre y total calculado por g de éster de los diferentes tratamientos.

35

El rendimiento de propionato se calculó en relación con el IS y la cantidad de propionato libre se calculó por la relación (libre/total) x 100 (%). El grado de esterificación (d_e) también se calculó utilizando este análisis utilizando el rendimiento de propionato unido (libre total) por gramo de éster para calcular los moles de propionato producidos por mol de éster de propionato.

40

Caracterización de pureza

Contenido de sal

45

El contenido de sal de 12 lotes aleatorios del éster de propionato de inulina producido durante el período de ~ 1 año fue probado externamente por un laboratorio de alimentos acreditado (Alcontrol Laboratories, Rotherham, Reino Unido). Los resultados se expresaron como g/g x 100 (%) de contenido.

50 Detección de metales pesados

El contenido de metales pesados tóxicos (As, Cr, Cd y Pb) se midió frente a un patrón de calibración externo mediante espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES; Optima 7300 DV, Perkin Elmer Cambridgeshire Reino Unido). Las muestras de inulina y éster de propionato de inulina se disolvieron en ácido nítrico concentrado Analar y se diluyeron 1: 100 antes del análisis con referencia al calibrador externo. Los resultados (µg/g) se expresaron según lo determinado por el instrumento.

55

Detección microbiológica

La calidad microbiológica de 12 lotes aleatorios de éster de propionato de inulina producidos durante el período de ~ 1 año fue probada externamente por un laboratorio acreditado de análisis de alimentos (Alcontrol Laboratories, Bellshill, Reino Unido). Las muestras se analizaron para el recuento de colonias aeróbicas (ufc/g), enterobacteriaceae (ufc/g), E. Coli (ufc/g) y Listeria (en 25 g).

5

Resultados

Síntesis

10 El rendimiento de éster de propionato de inulina a partir de inulina fue de ~ 70 %.

Caracterización química

Espectroscopía infrarroja

15

La vibración característica de un grupo de éster se observó a $1736,8\text{ cm}^{-1}$ que no estaba presente en el producto de inulina inicial.

GC-FID

20

El análisis de GC (n = 12) produjo $2,57 \pm 0,26\%$ de propionato libre del propionato total producido a partir de la molécula en la desesterificación completa. El análisis del rendimiento total de propionato (y que representa el propionato libre) de la molécula mostró que el grado real de esterificación (d_e) alcanzado fue $0,74 \pm 0,02$.

Pureza

25

El análisis del contenido de sal mostró que el $25,9 \pm 0,5\%$ (n = 12) del peso final podría atribuirse al NaCl. La detección de metales pesados mostró que todas las muestras de IPE tenían contenidos de metales pesados inferiores al del compuesto original de origen comercial y eran $< 1\text{ }\mu\text{g/g}$ para todas las especies.

30

Los resultados de las pruebas microbiológicas indicaron $<20\text{ ufc/g}$ de colonia aeróbica, $<10\text{ ufc/g}$ de enterobacterias, $<10\text{ ufc/g}$ de E. Coli y "no detectado" para Listeria (en 25 g) en todas las muestras analizadas, muy por debajo de los umbrales aceptados para los alimentos listos para el consumo (22).

Ejemplo 1b: Síntesis y caracterización de ésteres de propionato de inulina marcados con ^{13}C Materiales y métodos

35

Una variante marcada con isótopo estable ^{13}C del éster de propionato de inulina se sintetizó de una manera idéntica a la descrita anteriormente para el éster de propionato de inulina, utilizando anhídrido propiónico- ^{13}C como material de partida, para producir éster de propionato- ^{13}C con propionato-($1\text{-}^{13}\text{C}_1$) unido a la inulina.

40

Resultados

El éster de propionato de inulina marcado se sintetizó con un d_e previsto de ~ 0,74. Esta predicción se basa en la suposición de que el d_e del éster de propionato de inulina marcado será el mismo que el éster de propionato de inulina no marcado, ya que se usó la misma metodología sintética y las mismas proporciones de propionato a éster (1: 1).

45

Ejemplo 2: Prueba *in vitro* de la digestibilidad y fermentabilidad del éster de propionato de inulina

Materiales y métodos

50

Los perfiles de fermentación del éster de propionato de inulina con $d_e = 0,23$ y éster de propionato de inulina con $d_e = 0,92$ se probaron utilizando cultivos fecales discontinuos. La muestra fecal se recogió de una hembra sana y se preparó en incubaciones por triplicado para cada tratamiento. Los cultivos fecales discontinuos se prepararon a una concentración del 1 % (peso/vol húmedo) en PBS (pH 7, 100 mM) usando una licuadora de cocina estándar para

55 homogeneizar la muestra. 50 ml de esta suspensión se transfirieron a viales de suero de 100 ml de tapa roscada herméticos a gases y ~ 100 mg del NDC éster para analizar se añadió. Los viales se enjuagaron con nitrógeno sin oxígeno inmediatamente y se colocaron en un baño de agua con agitación a $37\text{ }^\circ\text{C}$. Se retiraron 800 μl del volumen acuoso de cada vial cada uno a intervalos de 0, 2, 4 y 6 horas. Se añadieron 100 μl de IS (2-etilbutirato, 73,8 mM) y 100 μl de ácido ortofosfórico concentrado y la muestra se mezcló completamente y se extrajo inmediatamente con 3

60 x 3 ml de éter. Las alícuotas de éter se agruparon y una submuestra se transfirió a un vial limpio para su análisis. Las muestras fueron analizadas por GC-FID como se describió anteriormente y la concentración de acetato, propionato y butirato se reportó en cada punto temporal usando la relación de área al IS y el factor de respuesta calibrado de cada SCFA al IS determinado por un patrón externo preparado gravimétricamente.

Resultados

65

La Figura 1 muestra que la proporción de propionato producido a partir del éster de propionato de inulina en las fermentaciones fecales es significativamente mayor en comparación con la inulina y representa ~ 90% del SCFA total producido.

5 Ejemplo 3: los efectos del éster de propionato de inulina con variación d_e sobre medidas subjetivas de calificación de apetito y hambre, ingesta de alimentos y respuesta metabólica en sujetos humanos

Material y métodos

10 Protocolos del estudio

Nueve sujetos sanos (8 hombres y 1 mujer) fueron reclutados para investigar el efecto de aumentar d_e en éster de propionato de inulina. La media (\pm SEM) del índice de masa corporal (IMC) de edad fue 26 ± 2 años y $23,9 \pm 2,1$ kg/m², respectivamente.

15 Los criterios de exclusión fueron tabaquismo, abuso de sustancias, embarazo, uso de medicamentos (excepto anticonceptivos orales), un cambio en el peso corporal > 5 kg en los 3 meses anteriores, enfermedad médica o psiquiátrica, y cualquier anomalía detectada en el examen físico, electrocardiografía o análisis de sangre de detección (medición del recuento sanguíneo completo, electrolitos, glucosa en ayunas, función tiroidea y función hepática). A todos los sujetos se les proporcionó un consentimiento informado por escrito antes del ensayo clínico (número de registro: NCT00750438), que fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Hammersmith y Queen Charlotte (08/H0707/99). El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki. El estudio se realizó durante un período de 4 semanas comenzando con el control (10 g de inulina) y luego aumentando la dosis de propionato por semana (IPE $d_e = 0,23$, $d_e = 0,46$, $d_e = 0,74$ en las semanas siguientes, aproximándose a 10, 20 y 30 % en peso de ingesta de propionato respectivamente). El protocolo consistió en una semana de aclimatación a la dosis de 2 días, el día de estudio en el día 3 seguido de 4 días de lavado. Los sujetos se abstuvieron de alcohol y ejercicio extenuante durante las 24 horas anteriores a cada día de estudio y consumieron una comida idéntica entre las 19:00 y las 20:00 la noche anterior. Los sujetos luego ayunaron durante la noche y llegaron al Hammersmith Hospital a las 08:30 en cada día de estudio. Se insertó una cánula en una vena del antebrazo y se recogieron muestras de sangre basales a -10 y 0 min. Después de la muestra de 0 min, los sujetos recibieron un desayuno estandarizado (398 kcal; 71,2 g de CHO, 7,9 g de grasa, 10,3 g de proteína) que contenía el vector de prueba. A los 180 minutos, se proporcionó un almuerzo estandarizado (356 kcal; 34,2 g de CHO, 11,9 g de grasa, 28,1 g de proteína) y a los 420 minutos se ofreció a los sujetos una cena buffet con comida en exceso para satisfacer todos los apetitos. La ingesta de alimentos se calculó pesando la comida servida preprandialmente y la comida no consumida postprandialmente. Se tomaron muestras de sangre posprandiales a los 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 min y se recogieron en tubos recubiertos con heparina que contenían 0,2 ml de aprotinina (Bayer). El plasma se separó inmediatamente por centrifugación (3000 rpm durante 10 minutos) a 4 °C y luego se almacenó a -70 °C hasta que se analizó. Se controló el hambre subjetiva, la saciedad y las náuseas con el uso de VAS de 100 mm. Se pidió a los sujetos que completaran las VAS antes de cada muestra de sangre. Se midió la respiración de H₂ a 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 min (Bedfont Scientific, Kent, Reino Unido). La inmunoreactividad similar a la insulina se midió usando un radioinmunoensayo de insulina humana ultrasensible (Millipore, EE. UU.). La glucosa en plasma se midió usando un analizador Abbott Architect ci8200 (Abbott Diagnostics, EE. UU.).

Análisis de datos

45 Los resultados se expresan como media \pm SEM. Los resultados fueron comparados por AVOVA con análisis post-hoc. El análisis estadístico se realizó en SPSS 18 (Chicago, EE. UU.).

Resultados:

50 *In vivo* hubo una tendencia lineal significativa ($p < 0,02$) para concentraciones reducidas de glucosa en el período en que ocurriría el flujo máximo de propionato (Figura 2 (c), $AUC_{180-360}$) aunque el AUC_{0-420} de glucosa global no mostró atenuación significativa (Figura 2 (b)). También se observó una tendencia lineal significativa ($p < 0,01$) para la respuesta a la insulina sobre el protocolo del estudio (Figura 3 (b), AUC_{0-420}) pero no durante el flujo máximo de propionato (Figura 3 (c) $AUC_{180-360}$, $p = 0,167$). Se observó una tendencia lineal significativa ($p = 0,03$) desde la línea de base hasta el éster de propionato de inulina con $d_e = 0,46$ que a mayor d_e apareció en la meseta. No se observó ningún efecto significativo cuando se analizaron los tratamientos por grupo para glucosa o insulina.

La ingesta de alimentos en la comida *ad libitum* tomada 7 horas después de la ingestión del éster de propionato de inulina (Figura 4 (b)) y la ingesta de alimentos durante todo el experimento (Figura 4 (a)) en todos los tratamientos exhibió una tendencia lineal significativa en la ingesta reducida de alimentos con el aumento de éster de propionato de inulina d_e ($p = 0,02$ para la ingesta de alimentos durante todo el experimento) pero las comparaciones grupales no mostraron ningún efecto significativo.

65 **Ejemplo 4: el efecto de diferentes dosis (0, 5, 10 y 15 g) de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) en medidas subjetivas de calificación de apetito y hambre e ingesta de alimentos.**

Protocolos del estudio

5 Nueve sujetos sanos (8 hombres y 1 mujer) fueron reclutados para investigar el efecto de aumentar la dosis a un d_e fijo de éster de propionato de inulina. La edad media (\pm SEM) y el índice de masa corporal (IMC) fueron 27 ± 2 años y $25,0 \pm 1,3$ kg/m², respectivamente.

10 Los criterios de exclusión fueron tabaquismo, abuso de sustancias, embarazo, uso de medicamentos (excepto anticonceptivos orales), un cambio en el peso corporal > 5 kg en los 3 meses anteriores, enfermedad médica o psiquiátrica, y cualquier anomalía detectada en el examen físico, electrocardiografía o análisis de sangre de detección (medición del recuento sanguíneo completo, electrolitos, glucosa en ayunas, función tiroidea y función hepática). A todos los sujetos se les proporcionó un consentimiento informado por escrito antes del ensayo clínico (número de registro: NCT00750438), que fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Hammersmith y Queen Charlotte (08/H0707/99). El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki.

15 Los sujetos fueron estudiados en cuatro ocasiones con una semana de diferencia. Cada semana, los sujetos llegaban al Hospital Hammersmith a las 08:30 y se les servía un desayuno estandarizado (533 kcal; 78,1 g de CHO, 16,9 g de grasa, 17,5 g de proteína) que contenía una dosis creciente de 0, 5, 10, 15 g de IPE ($d_e = 0,74$). Esto implicó un período de preinclusión de 6 días con la dosis dada, seguido del día de estudio antes de pasar al siguiente nivel de dosis. En cada ocasión se les dio una dosis idéntica de 100 mg de éster de propionato de inulina marcado con ¹³C ($d_e = \sim 0,74$, que contenía ~ 30 mg de ácido (1-¹³C₁)-propiónico) unido. Se recogió y midió la respiración de H₂ en tiempo real usando un monitor de H₂ portátil (Bedfont Scientific Ltd, Kent, Reino Unido). Se recogió la respiración de CO₂ en serie durante 24 horas (excluyendo el período de sueño) exhalando la respiración alveolar a través de una pajita en Exetainers. El enriquecimiento de ¹³CO₂ se determinó por espectrometría de masas con relación isotópica. La respiración de H₂ se expresó como ppm y ¹³CO₂ como ppm xs, definido como ppm de enriquecimiento de ¹³C por encima de las muestras de referencia recogidas antes de la ingestión isotópica. La excreción acumulativa de ¹³CO₂ también se calculó.

30 Al comienzo del estudio, los sujetos recibieron un desayuno estandarizado (398 kcal; 71,2 g de CHO, 7,9 g de grasa, 10,3 g de proteína) que contenía la dosis de prueba + 100 mg ¹³C-IPE. A los 180 minutos, se proporcionó un almuerzo estandarizado (356 kcal; 34,2 g de CHO, 11,9 g de grasa, 28,1 g de proteína) y a los 420 minutos se ofreció a los sujetos una cena buffet con comida en exceso para satisfacer todos los apetitos. La ingesta de alimentos se cuantificó pesando los alimentos preprandialmente y los alimentos no consumidos se pesaron posprandialmente. Se controló el hambre subjetiva, la saciedad y las náuseas con el uso de VAS de 100 mm. Se pidió a los sujetos que completaran el VAS a los 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 min.

35 Análisis de datos

Los resultados se expresan como media \pm SEM. Los resultados fueron comparados por AVOVA con análisis post-hoc. El análisis estadístico se realizó en SPSS 18 (Chicago, EE. UU.).

40 Resultados:

45 La ingesta de alimentos en relación con el aumento de la ingesta de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) no mostró una disminución significativa ni en la tendencia lineal ($p = 0,12$) ni en el análisis grupal ($p = 0,9$). La Figura 5 (a) muestra que las sensaciones de querer comer evaluadas por VAS mostraron una disminución significativa del deseo de comer a dosis de 10 y 15 g de IPE ($p < 0,05$). Solo se observaron tendencias lineales significativas hacia una disminución en el deseo de comer desde el inicio hasta 10 g ($p = 0,04$) pero no desde el inicio hasta 15 g ($p = 0,11$) de ingesta de éster de propionato de inulina. Se observó una tendencia lineal significativa ($p = 0,046$) hacia una mayor sensación de plenitud con el aumento de la dosis de IPE (Figura 5 (b)), aunque no se observaron efectos significativos en las comparaciones grupales.

Ejemplo 5: Investigación isotópica estable

55 Sujetos de estudio

Nueve sujetos sanos (8 hombres y 1 mujer) fueron reclutados para la investigación isotópica estable. La edad media (\pm SEM), peso e índice de masa corporal (IMC) fue de 32 ± 4 años, $75,0 \pm 4,0$ kg y $25,0 \pm 1,3$ kg/m², respectivamente.

60 Los criterios de inclusión para la investigación fueron un IMC de 20 a 35 kg/m² y de 21 a 65 años de edad. Los criterios de exclusión fueron tabaquismo, abuso de sustancias, embarazo, uso de medicamentos (excepto anticonceptivos orales), un cambio en el peso corporal > 5 kg en los 3 meses anteriores, enfermedad médica o psiquiátrica, alimentación restringida (cuestionario de conducta alimentaria holandesa: puntuación masculina $> 2,25$; puntuación femenina $> 2,80$), y cualquier anomalía detectada en el examen físico, electrocardiografía o análisis de sangre de detección (medición del recuento sanguíneo completo, electrolitos, glucosa en ayunas, función tiroidea y función hepática).

65 Los sujetos fueron estudiados en cuatro ocasiones con una semana de diferencia. Cada semana, los sujetos llegaban

al Hospital Hammersmith a las 08:30 y se les servía un desayuno estandarizado (533 kcal; 78,1 g de CHO, 16,9 g de grasa, 17,5 g de proteína) que contenía una dosis creciente de propionato de inulina (0, 5, 10, 15 g). En cada ocasión se les dio una dosis idéntica de propionato de inulina marcado con ^{13}C que contenía -30 mg de ácido (1- $^{13}\text{C}_1$) - propiónico ($d_e = \sim 0,74$ que contiene -30 mg de ácido (1- $^{13}\text{C}_1$) - propiónico) unido. Se recogió y midió la respiración de H_2 en tiempo real usando un monitor de H_2 portátil (Bedfont Scientific Ltd, Kent, Reino Unido). Se recogió la respiración de CO_2 soplando en Exetainers. Se determinó el enriquecimiento de $^{13}\text{CO}_2$ por espectrometría de masas con relación isotópica (IRMS). La respiración de H_2 se expresó como ppm y $^{13}\text{CO}_2$ como ppm xs, definido como ppm de ^{13}C por encima de las muestras de referencia recogidas antes de la ingestión isotópica. La excreción acumulativa de $^{13}\text{CO}_2$ también se calculó. Se recogió sangre en serie a lo largo del estudio.

El plasma se recogió a -15, 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min para el análisis de enriquecimiento de propionato ^{13}C por GC-combustión-IRMS (GC-C-IRMS). El enriquecimiento de acetato ^{13}C también se midió en el mismo análisis que un control para la influencia de la dieta en el enriquecimiento de SCFA ^{13}C y para la evidencia de interconversión entre propionato y acetato. Los datos se expresaron como $\delta^{13}\text{C}$ (por mil o ‰) que representa el cambio en la proporción medida en partes por mil del estándar de carbono internacionalmente verificado Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB). Se analizó la orina para propionato ^{13}C por GC-C-IRMS. La orina se recogió y se reunió justo antes del consumo del éster de propionato durante un período de 24 horas. Se recogieron dos alícuotas de 25 ml y se almacenaron a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ hasta el análisis. El enriquecimiento isotópico se expresó como $\delta^{13}\text{C}$ (‰). Las concentraciones de SCFA (mmol/L) se midieron en relación con un patrón interno (valerato de 3-metilo).

Resultados:

^{13}C éster de propionato de inulina, $82,9 \pm 2,3\%$ del propionato recuperado en la respiración durante 24 horas pareció coincidir con y después del inicio de la respiración de H_2 , definido como el primer aumento sostenido de la respiración de H_2 , sugiriendo la administración de la mayoría del marcador al colon.

Los datos de las víctimas de muerte súbita muestran que el tamaño promedio de la reserva de propionato en el intestino grueso proximal es de 4,5 mmol. Calculamos que la ingesta de 10 g de éster de propionato de inulina, liberando 36,2 mmol de propionato, aumentaría los niveles de propionato colónicos en un promedio de $\sim 800\%$ si se liberara todo el propionato en el colon.

El propionato y el hidrógeno en la respiración comenzaron a aumentar a los 180 minutos, sugiriendo que el éster de propionato de inulina se está fermentando (Figura 6). La recuperación del propionato marcado continuó aumentando hasta 420 minutos cuando alcanzó una meseta. Cuando el propionato en plasma circulante era detectable, se midieron los aumentos significativos en enriquecimiento de propionato ^{13}C ($\delta^{13}\text{C} = -18,4 \pm 1,6$ vs. $-2,5 \pm 3,3\%$, $p \leq 0,03$, $n = 4$) y concentración ($13,4 \pm 1,4$ vs. $23,7 \pm 2,2\ \mu\text{mol/L}$, $p \leq 0,05$; $n = 4$) en la sangre periférica a 360 min en comparación con el punto de referencia. No se observaron diferencias significativas en el enriquecimiento o concentración de acetato plasmático. En la orina, el enriquecimiento de propionato ^{13}C fue significativamente mayor con 10 g de éster de propionato de inulina en comparación con la inulina de control ($\delta^{13}\text{C} = -23,3 \pm 1,8$ vs. $-13,6 \pm 3,4\%$; $p = 0,02$; $n = 5$), aunque no se observaron diferencias significativas en las concentraciones de propionato en la orina. Los datos isotópicos demuestran que el propionato ingresa al torrente sanguíneo y está disponible sistémicamente.

Ejemplo 6: Investigación de la ingesta de alimentos en sujetos humanos

Materiales y métodos:

Éster de propionato de inulina

El éster de propionato de inulina se produjo con un grado de esterificación, $d_e = 0,74 \pm 0,02$ ($n = 12$) y un nivel de propionato libre de $2,57 \pm 0,26\%$ ($n = 12$) del propionato total disponible de la molécula. El 97% del propionato recuperado se unió químicamente al polímero de inulina.

Sujetos de estudio

Veinte sujetos sanos (15 hombres y 5 mujeres) fueron reclutados para la investigación de la ingesta de alimentos. La edad media (\pm SEM), peso e índice de masa corporal (IMC) fue de 31 ± 2 años, $75,0 \pm 3,0$ kg y $25,4 \pm 0,8$ kg/m², respectivamente.

Los criterios de inclusión para la investigación fueron un IMC de 20 a 35 kg/m² y de 21 a 65 años de edad. Los criterios de exclusión fueron tabaquismo, abuso de sustancias, embarazo, uso de medicamentos (excepto anticonceptivos orales), un cambio en el peso corporal > 5 kg en los 3 meses anteriores, enfermedad médica o psiquiátrica, alimentación restringida (cuestionario de conducta alimentaria holandesa: puntuación masculina $> 2,25$; puntuación femenina $> 2,80$), y cualquier anomalía detectada en el examen físico, electrocardiografía o análisis de sangre de detección (medición del recuento sanguíneo completo, electrolitos, glucosa en ayunas, función tiroidea y función hepática).

Investigación de ingesta de alimentos

El estudio se realizó de forma aleatoria, doble ciego, de manera cruzada, con cada sujeto estudiado en dos ocasiones

4 días de diferencia. Los sujetos se abstuvieron de alcohol y ejercicio extenuante durante las 24 horas anteriores a cada día de estudio y consumieron una comida idéntica entre las 19:00 y las 20:00 la noche anterior. Los sujetos luego ayunaron durante la noche y llegaron al Hammersmith Hospital a las 08:30 en cada día de estudio. Se insertó una cánula en una vena del antebrazo y se recogieron muestras de sangre basales a -10 y 0 min. Después de la muestra de 0 min, los sujetos recibieron un desayuno estandarizado (398 kcal; 71,2 g de CHO, 7,9 g de grasa, 10,3 g de proteína) que contenía 10 g de éster de propionato de inulina ($d_e = 0,74$) o 10 g de inulina. A los 180 minutos, se proporcionó un almuerzo estandarizado (356 kcal; 34,2 g de CHO, 11,9 g de grasa, 28,1 g de proteína) y a los 420 minutos se ofreció a los sujetos una cena buffet con comida en exceso para satisfacer todos los apetitos. La cantidad de alimento se cuantificó preprandialmente y postprandialmente, y se calculó el consumo de energía. Se tomaron muestras de sangre posprandiales a los 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 min y se recogieron en tubos recubiertos con heparina que contenían 0,2 ml de aprotonina (Bayer). El plasma se separó inmediatamente por centrifugación a 4 °C y luego se almacenó a -70 °C hasta que se analizó. Se controló el hambre subjetiva, la saciedad y las náuseas con el uso de escalas analógicas visuales (VAS) de 100 mm. Se pidió a los sujetos que completaran las VAS antes de cada muestra de sangre. Además, también se completaron las VAS para evaluar la palatabilidad del desayuno estandarizado. Se midió la respiración de H₂ a 0, 60, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 min (Bedfont Scientific, Kent, Reino Unido).

Análisis de la hormona intestinal

La inmunoreactividad similar a GLP-1- y PYY se midió usando radioinmunoensayos internos específicos y sensibles. La inmunoreactividad similar a la insulina se midió usando un radioinmunoensayo de insulina humana ultrasensible (Millipore) y la glucosa en plasma se midió usando un analizador Abbott Architect ci8200 (Abbott Diagnostics, EE. UU.).

Análisis estadísticos

Las diferencias en la ingesta de energía y el área incremental bajo la curva (iAUC) para los niveles de hormonas plasmáticas y VAS entre los ensayos se evaluaron mediante el uso de pruebas *t* de Student emparejadas. Se realizaron medidas repetidas ANOVA bidireccionales (tiempo de prueba) para determinar las diferencias en los niveles de hormonas en plasma, VAS y respiración de hidrógeno. Los efectos significativos fueron seguidos por comparaciones *post hoc* (Dunnett). Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Los datos se presentan como la media \pm SEM.

Resultados

El efecto del éster de propionato de inulina en la ingesta de alimentos en voluntarios humanos 7 horas después de la ingesta de éster de propionato de inulina oral.

Los cambios en el apetito se evaluaron midiendo la ingesta de alimentos durante una comida buffet *ad libitum* estandarizada 7 horas después de la ingesta de éster de propionato o suplemento de inulina. La ingesta de alimentos se redujo significativamente de 1175 ± 104 kcal a 1013 ± 94 kcal ($p = 0,009$), lo que corresponde a una reducción promedio de 13,8 % (véase Figura 7 (a)). El análisis individual de los datos reveló que 16 de 20 sujetos experimentaron una reducción en la ingesta de alimentos bajo el suplemento de éster de propionato de inulina (véase Figura 7 (b)).

El efecto del éster de propionato de inulina en la evaluación subjetiva del apetito usando escalas analógicas visuales validadas en voluntarios humanos

El apetito se evaluó durante todo el estudio de comidas usando escalas analógicas visuales validadas para la sensación de hambre, náuseas, satisfacción, posible ingesta de alimentos y plenitud. Los datos completos se ilustran en la Figura 8 (a) - 8 (e). Se observó un aumento significativo en la plenitud después del suplemento de éster de propionato (8 (e)) lo que sugiere un efecto sobre la saciedad ($P < 0,03$); sin embargo, no hubo cambios significativos en las calificaciones de hambre, náuseas, satisfacción y posible ingesta de alimentos.

Análisis de las calificaciones de plenitud de 20 sujetos después de la administración de 10 g de éster de propionato de inulina o 10 g de inulina

La Figura 8 (a) muestra la plenitud a los 0-420 minutos después de la administración oral. El iAUC promedio fue de $35,0 \pm 5,2$ para el éster de propionato de inulina, vs. $26,6 \pm 2,9$ para inulina, $p = 0,09$.

Análisis de las calificaciones de hambre de 20 sujetos después de la administración de 10 g de éster de propionato de inulina o 10 g de inulina

La Figura 8 (b) muestra la plenitud a los 0-420 minutos después de la administración oral. El iAUC promedio fue $-25,8 \pm 4,5$ para éster de propionato de inulina, vs. $-24,3 \pm 4,7$ para inulina, $p = 0,82$

Análisis de las calificaciones de náuseas de 20 sujetos después de la administración de 10 g de éster de

propionato de inulina o 10 g de inulina

La Figura 8 (c) muestra la plenitud a los 0-420 minutos después de la administración oral. El iAUC promedio fue de $-1,5 \pm 2,3$ para el éster de propionato de inulina, vs. $-1,6 \pm 1,4$ para inulina, $p = 0,95$

Análisis de las calificaciones de satisfacción de 20 sujetos después de la administración de 10 g de éster de propionato de inulina o 10 g de inulina

La Figura 8 (d) muestra la plenitud a los 0-420 minutos después de la administración oral. El iAUC promedio fue $-25,8 \pm 3,9$ para éster de propionato de inulina, vs. $-26,6 \pm 4,6$ para inulina, $p = 0,87$

Análisis de las posibles calificaciones de la ingesta de alimentos de 20 sujetos después de la administración de 10 g de éster de propionato de inulina o 10 g de inulina

La Figura 8 (e) muestra la plenitud a los 0-420 minutos después de la administración oral. El iAUC promedio fue $-20,9 \pm 2,7$ para éster de propionato de inulina, vs. $-19,9 \pm 3,6$ para inulina, $p = 0,78$

Efecto del éster de propionato de inulina sobre la liberación de PYY y GLP-1 en el intestino

En comparación con el control, el éster de propionato de inulina aumentó significativamente el PYY en plasma ($\Delta AUC_{240-420min}$ 429 pmol/l [95% de CI, -543 a 1400] de control vs. 3349 pmol/l [841 a 5857] de éster de propionato de inulina; $p < 0,05$) (figuras 9 (a) y 9 (c), en donde las flechas indican comidas estandarizadas) y niveles de GLP-1 y GLP-1 ($\Delta AUC_{240-420min}$ 3495 pmol/l [95 % de CI, -1567 a 8558] de control vs. 10801 pmol/l [5897 a 15704] de éster de propionato de inulina; $p < 0,05$) entre 240-420 min después de la ingestión (figuras 9 (d) y 9 (f)). Antes de los 240 minutos (el tiempo estimado para que las moléculas ingresen al colon) no hubo diferencias significativas en la concentración de PYY y GLP-1 entre el control y el éster de propionato de inulina (figuras 9 (b) y 9 (e)).

Efecto del éster de propionato de inulina sobre la homeostasis de la glucosa

Los niveles de glucosa e insulina se midieron durante la prueba de comida completa. Ninguno de los niveles de glucosa (iAUC promedio $0,32 \pm 0,16$ vs. $0,28 \pm 0,12$, $p=0,8$, Figura 10 (a)) ni niveles de insulina (iAUC promedio $28,4 \pm 2,9$ vs. $32,5 \pm 4,7$, $p=0,27$, Figura 10 (b)) fue significativamente diferente entre el éster de propionato de inulina y el suplemento de inulina.

Ejemplo 7: Efecto del propionato libre sobre la liberación de PYY y GLP-1 de células L humanas *in vitro***Materiales y métodos****Aislamiento de células colónicas humanas**

Se obtuvieron biopsias de colon de pacientes sometidos a colonoscopia diagnóstica en Hammersmith Hospital. A todos los sujetos se les proporcionó un consentimiento informado por escrito antes del estudio, cuya aprobación fue otorgada por el Comité ético de Investigación de Hammersmith y Queen Charlotte.

El tejido colónico se digirió como se describió anteriormente (Reimann *et al.* 2008) con modificaciones menores. Brevemente, el tejido se digirió con 0,4 mg/ml de colagenasa XI (Sigma, Reino Unido) en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) a 37 °C. Las suspensiones celulares resultantes se centrifugaron durante 5 minutos a 500 g y los sedimentos se volvieron a suspender en DMEM (suplementado con 10 % de FCS y 1 % de penicilina/estreptomicina). El proceso de digestión se repitió tres o cuatro veces y las suspensiones celulares combinadas se colocaron en placas en placas recubiertas con Magrigel al 1 % de 24 pocillos e incubadas a 37 °C en una atmósfera del 5 % de CO₂.

Experimentos de secreción de hormonas intestinales *in vitro*

Los experimentos de secreción se llevaron a cabo 18-24 horas después de la colocación en placas de las células del colon. Las células se lavaron dos veces con tampón de secreción (KCl 4,5 mM, NaCl 138 mM, NaHCO₃ 4,2 mM, NaH₂PO₄ 1,2 mM, CaCl₂ 2,6 mM, MgCl₂ 1,2 mM, HEPES 10 mM, ajustado a pH 7,4 con NaOH) que contenía BSA al 0,1 %. Las células se incubaron con propionato de sodio (Sigma, Reino Unido) durante 4 horas a 37 °C en una atmósfera de 5 % de CO₂. Después de la incubación, los sobrenadantes celulares se centrifugaron para eliminar los restos celulares y las placas se trataron con tampón de lisis y se congelaron y descongelaron. La secreción de la hormona intestinal se expresó como porcentaje de liberación de hormonas, se calculó para cada pocillo y normalizado a secreción basal. La salud celular se confirmó usando un ensayo de lactato deshidrogenasa CytoScan™ (G-Biosciences).

Resultados:

El propionato estimuló significativamente la secreción de PYY de las células colónicas humanas, con concentraciones

de 200 y 400 mmol/L que inducen aumentos de 1,8 y 3,0 veces por encima de la secreción basal, respectivamente ($P < 0,05$ y $P < 0,001$). El propionato también aumentó la secreción de GLP-1, con 200 y 400 mmol/L induciendo incrementos de 1,6 y 2,4 veces ($P < 0,001$) en la liberación de GLP-1, respectivamente (véase Figura 11).

5 Ejemplo 8a: Método de purificación adicional

Métodos y materiales

10 Una diálisis de 3 días en un tubo de diálisis (Spectra/Por 6, 1000 MWCO, Spectrum Europe BV, Breda, Países Bajos) se llevó a cabo en éster de propionato de inulina como se preparó en el ejemplo 1 ($d_e = 0,74$).

Resultados

15 La diálisis dio como resultado la eliminación completa de la sal. La pérdida del rendimiento del éster (aproximadamente 50 %) resultó, pero sin comprometer la calidad del éster. Además, la cantidad de propionato libre se redujo por diálisis a < 1 % del propionato total disponible después de la completa desesterificación.

Ejemplo 8b: Estudio de palatabilidad

20 Materiales y métodos

25 10 g de éster de propionato de inulina preparado en el ejemplo 1 ($d_e = 0,74$) y 10 g de éster de propionato de inulina como se preparó en el ejemplo 1 y purificado como en el ejemplo 8a ($d_e = 0,74$) se disolvieron en agua y en zumo de frutas. Se realizó un estudio de palatabilidad utilizando escalas analógicas visuales validadas para la sensación de hambre, náuseas, satisfacción, posible ingesta de alimentos y plenitud.

Resultados

30 El éster purificado por diálisis, sin sal y con menos propionato, el éster purificado por columnas de carbón solo, fue más apetecible para el consumo humano. La purificación por diálisis dio como resultado un producto casi insípido cuando se disolvió en agua e indetectable cuando se disolvió en zumo de fruta. El éster purificado por columnas de carbón solo tiene un sabor amargo cuando se disuelve en agua y un sabor ligeramente amargo cuando se disuelve en zumo de fruta.

35 Ejemplo 9: Investigación de suplementación de alimentos a largo plazo en seres humanos Materiales y métodos:

Éster de propionato de inulina

40 El éster de propionato de inulina se produjo con un grado de esterificación, $d_e = 0,74 \pm 0,02$ ($n = 12$) y un nivel de propionato libre de $2,57 \pm 0,26$ % ($n = 12$) del propionato total disponible de la molécula. El 97% del propionato recuperado se unió químicamente al polímero de inulina.

45 Sujetos de estudio

50 Hombres y mujeres sanos de 40 a 65 años, con un IMC de 25-40 kg/m² fueron reclutados del público en general. Los sujetos potenciales fueron excluidos si tenían enfermedades clínicamente significativas (incluida la diabetes tipo 1 o tipo 2), si tomaban medicamentos conocidos por afectar el apetito y/o el peso corporal, una pérdida de peso de 3 kg o más en los dos meses anteriores, tabaquismo, abuso de sustancias, enfermedad psiquiátrica, alimentación restringida (cuestionario de conducta alimentaria holandesa: puntuación masculina $> 2,25$; puntuación femenina $> 2,80$), y cualquier anomalía detectada en el examen físico, electrocardiografía o análisis de sangre de detección (medición del recuento sanguíneo completo, electrolitos, glucosa en ayunas, función tiroidea y función hepática). Las mujeres no eran aptas si estaban embarazadas o en periodo de lactancia. De unas 167 personas iniciales que respondieron a cartas de invitación, la muestra final después de la detección estuvo compuesta por 60 personas. El proceso de selección se muestra en la Fig. 12. A todos los sujetos se les proporcionó un consentimiento informado por escrito antes del ensayo clínico (número de registro: NCT00750438), que fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de Hammersmith y Queen Charlotte (08/H0707/99). El estudio se realizó de conformidad con la Declaración de Helsinki.

60 (a) Investigación de suplementación de alimentos

65 El estudio se realizó de forma aleatoria, doble ciego, controlado por placebo, diseño paralelo. Se requirieron visitas de estudio de dos días en el punto de referencia (semana 0) y después de 24 semanas de suplementación dietética. El día anterior a cada visita de estudio, se pidió a los sujetos que consumieran una cena estándar, ayunaran durante la noche a partir de las 22:00 y evitaran la actividad física extenuante y el alcohol. Todas las visitas de estudio comenzaron entre las 08:00 y las 09:00. Después de tomar todas las mediciones de referencia, los sujetos fueron

asignados aleatoriamente al grupo de éster de propionato de inulina de 10 g/día o al grupo de control de inulina de 10 g/día. El suplemento dietético se suministró a los sujetos en sobres listos para usar y se les indicó que mezclaran el contenido en su dieta normal una vez al día durante el período de tratamiento de 24 semanas. Todos los sujetos recibieron instrucciones de mantener sus hábitos dietéticos y de actividad habituales durante el período de intervención. La comunicación regular entre los sujetos y los investigadores del estudio aseguró un buen cumplimiento. Después de 8 y 16 semanas del período de intervención, se invitó a los sujetos a asistir a visitas de seguimiento para registrar el peso corporal y controlar el cumplimiento y los efectos secundarios gastrointestinales. Después de 24 semanas, se repitieron las medidas tomadas en el punto de referencia. Los sujetos devolvieron todos sus sobres usados y no usados para estimar el cumplimiento. El diario de síntomas también se recopiló durante el período del estudio.

(b) Ingesta de alimentos y homeostasis de glucosa

En las visitas de estudio, se insertó una cánula en una vena antecubital y se recogieron muestras de sangre basales a -10 y 0 min para evaluar las concentraciones plasmáticas de glucosa, insulina, PYY y GLP-1. Después de la muestra de 0 min, los sujetos recibieron un desayuno estandarizado (398 kcal; 71,2 g de CHO, 7,9 g de grasa, 10,3 g de proteína). En la semana 24, el desayuno también contenía 10 g de éster de propionato de inulina o 10 g de control de inulina dependiendo del grupo de tratamiento. Se tomaron muestras de sangre posprandiales a los 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240 y 300 min y se recogieron en tubos recubiertos con heparina que contenían 0,2 ml de aprotinina (Bayer, Reino Unido). La inmunoreactividad similar a GLP-1- y PYY se midió usando radioinmunoensayos internos específicos y sensibles. La inmunoreactividad similar a la insulina se midió usando un radioinmunoensayo de insulina humana ultrasensible (Millipore) y la glucosa en plasma se midió usando un analizador Abbott Architect ci8200 (Abbott Diagnostics, EE. UU.). A los 300 minutos, se ofreció a los sujetos un almuerzo buffet con comida servida en exceso y se les pidió que comieran hasta que estuvieran cómodamente saciados. Se cuantificó la cantidad de alimentos y se calculó la ingesta de energía. Se controló el hambre subjetiva, la saciedad y las náuseas con el uso de escalas analógicas visuales (VAS) de 100 mm. Se pidió a los sujetos que completaran las VAS antes de cada muestra de sangre. Además, se midió la respiración de H₂ a 0, 60, 120, 180, 240 y 300 min (Bedfont Scientific, Kent, Reino Unido) en un subconjunto de cada grupo (9 en el grupo de éster de propionato, 8 en el grupo de control de inulina).

(c) Composición corporal

La composición corporal se evaluó mediante resonancia magnética (MRI) y espectroscopía (MRS). Los datos de MRI y MRS no se pudieron recopilar en 19 sujetos, debido a implantes metálicos (n = 8), claustrofobia (n = 9) y problemas técnicos con el escáner (n = 2). El peso corporal se midió en todos los sujetos al 0,1 kg más cercano (TBF-300, Tanita) y se tomó mientras los sujetos usaban ropa ligera.

(d) Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes

Se recogió una muestra de sangre en ayunas y se analizaron los niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol asociado con lipoproteínas de baja densidad (LDL), colesterol asociado con lipoproteínas de alta densidad (HDL), hemoglobina glicosilada (HbA1c) y pruebas de función hepática (alanina transaminasa, fosfatasa alcalina, aspartato transaminasa). La presión arterial y el pulso también se midieron después de que los sujetos hubieran estado en posición supina durante al menos 15 minutos.

(e) Hibridación fluorescente *in situ* para evaluar los cambios microbianos intestinales en éster de propionato de inulina y control de inulina

Se obtuvieron muestras fecales de tres voluntarios humanos sanos (una mujer y dos hombres; edad 30 - 50 años; IMC 25-31). Los voluntarios fueron excluidos si sufrían algún trastorno gastrointestinal (por ejemplo, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, síndrome del intestino irritable, úlceras pépticas y cáncer) y/o habían tomado antibióticos en los seis meses anteriores a la donación de muestra. Las muestras se mantuvieron en condiciones anaerobias (10% de H₂, 10% de CO₂ y 80% de N₂) y se usaron dentro de un máximo de 30 minutos después de la recogida. Las muestras se diluyeron 1/10 p/p en PBS anaerobio (solución tampón de fosfato 0,1 mol/l, pH 7,4) y homogeneizado en un stomacher (Stomacher 400, Seward, West Sussex, Reino Unido) durante 2 minutos a velocidad normal.

Los fermentadores estériles de cultivo discontinuo (volumen de trabajo de 150 ml) se instalaron en paralelo y se llenaron asépticamente con 135 ml de medio de cultivo basal estéril previamente reducido (agua de peptona 2 g/l (Oxoid), extracto de levadura 2 g/l (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), NaCl 0,1 g/l, K₂HPO₄ 0,04 g/l, KH₂PO₄ 0,04 g/l, MgSO₄·7H₂O 0,01 g/l, CaCl₂·6H₂O 0,01, NaHCO₃ 2 g/l, Tween 80 2 ml (BDH, Poole, Reino Unido), hemina 0,05 g/l, vitamina K₁ 10 µl, cisteína.HCl 0,5 g/l, sales biliares 0,5 g/l). Los fermentadores fueron gaseados durante la noche con N₂ sin O₂. El éster de propionato de inulina y los sustratos de control de inulina (1/10 p/v) se agregaron a sus fermentadores respectivos justo antes de la adición de la suspensión fecal. Se preparó un recipiente sin sustrato para cada voluntario como control negativo. Los cultivos se agitaron continuamente y se mantuvieron a 37 °C por medio de un baño de agua circulante. El pH del cultivo se mantuvo entre 9,7 y 6,9 utilizando controladores de pH automatizados (Fermac 260, Electrolab, Tewkesbury, Reino Unido). Cada recipiente se inoculó con 15 ml de suspensión fecal fresca (1/10 p/p). Las fermentaciones discontinuas se realizaron durante 48 h y se obtuvieron muestras de 6 ml de cada

recipiente a las 0, 10, 24, 34 y 48 h para el análisis de hibridación fluorescente *in situ* (FISH). Se prepararon tres fermentaciones replicadas, cada una inoculada con una de tres muestras fecales humanas diferentes.

La hibridación fluorescente *in situ* dirigida a *Bifidobacterium* spp (Bif164), *Bacteroides/Prevotella* (Bac303), *Lactobacillus/Enterococcus* (Erec482), *Clostridium histolyticum* (Chis150), *Atopobium cluster* (Ato291) y *Eubacterium rectale/Clostridium coccoides* (Erec482), se utilizaron según lo descrito por Sarbini et al (2011). Las células se visualizaron usando microscopía fluorescente (Eclipse 400, Nikon, Surrey, Reino Unido) usando la lente Fluor 100. Para cada muestra, se enumeraron 15 campos de visión diferentes. El análisis univariado de varianza (ANOVA) y la prueba *post hoc* de Tukey se utilizaron para determinar las diferencias significativas de sustratos utilizados en poblaciones de grupos bacterianos.

Análisis estadístico

El tamaño de la muestra para el estudio de ingesta aguda de alimentos se basó en un cálculo de potencia, suponiendo una disminución del 15 % en la ingesta de energía con una desviación estándar del 20 % ($\alpha = 0,05$, potencia = 0,85), lo que dio como resultado un tamaño de muestra requerido estimado de 20 por grupo. Los datos del estudio de suplementación aguda se utilizaron para estimar el tamaño de muestra requerido para la investigación a largo plazo. El tamaño de la muestra se calculó suponiendo que la DE de la diferencia en el consumo de energía en la semana 24 sería de 250 kcal. 52 individuos (26 en cada grupo) proporcionarían un 80 % de confianza ($\alpha = 0,05$) para detectar una diferencia de 200 kcal en la ingesta de alimentos entre los grupos de tratamiento con éster de propionato de inulina y de control de inulina. Se analizaron los datos de los 49 sujetos que completaron la intervención de 24 semanas (análisis por protocolo; Figura 13). 11 sujetos (18 %) no completaron la intervención de 24 semanas y no hubo diferencias significativas en la deserción entre los dos grupos, como se muestra en la Fig. 12. Los datos de composición corporal basales y posteriores a la intervención se obtuvieron de 17 sujetos en el grupo de éster de propionato de inulina y 15 sujetos en el grupo de control. Para la comparación de variables continuas, el cambio desde el inicio a las 24 semanas se calculó en cada sujeto y se comparó las medias dentro del grupo usando pruebas t pareadas y se comparó el cambio medio entre los grupos usando pruebas t no pareadas. Se realizaron pruebas de chi cuadrado para comparar porcentajes de sujetos en cada grupo que ganaron ≥ 3 % y ≥ 5 % de su peso inicial. Se realizó ANOVA unidireccional para determinar las diferencias en niveles secretados de hormonas intestinales *in vitro*. Las diferencias en la ingesta de energía y el área bajo la curva (AUC) para los niveles de hormonas plasmáticas entre los ensayos se evaluaron mediante la prueba t de Student pareada. Se realizaron medidas repetidas ANOVA bidireccionales (tiempo de prueba) para determinar las diferencias en los niveles de hormonas en plasma, VAS y respiración de hidrógeno. Los efectos significativos fueron seguidos por comparaciones *post hoc*. Los valores de $p < 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. Los datos se presentan como medias \pm SEM o \pm 95 % Intervalo de confianza [IC].

Resultados

Pérdida de peso y composición corporal

Después de 24 semanas de suplementación dietética, el grupo de éster de propionato de inulina había perdido un peso corporal medio de $1,02 \pm 0,57$ kg ($p = 0,062$), mientras que el grupo de control había ganado $0,38 \pm 0,69$ kg ($p = 0,558$). La diferencia en la pérdida de peso entre los grupos no fue significativamente diferente durante el período de 24 semanas (figura 14 (a); $p = 0,097$). La pérdida de peso dentro del grupo de éster de propionato de inulina de las semanas 16 a 24 fue significativa ($0,81 \pm 0,26$ kg; $p = 0,002$). Encontramos un aumento de peso superior al mantenimiento de peso normal (≥ 3 % de peso basal) en 1 de 25 sujetos después del tratamiento con éster de propionato de inulina (4 %), en comparación con 6 de 24 sujetos (25 %) en el grupo control (figura 14 (b); $P = 0,036$). Asimismo, ninguno de los sujetos tuvo un aumento de peso sustancial (≥ 5 % del peso inicial) en el grupo de éster de propionato de inulina en comparación con 4 de 24 (17 %) después del tratamiento de control (figura 14 (b); $P = 0,033$).

Después del período de intervención, no hubo cambios significativos en el contenido total de tejido adiposo entre grupos, sin embargo, después del tratamiento, el cambio en la distribución de la grasa interna en el área abdominal (expresado como un porcentaje del contenido total de tejido adiposo) fue significativamente menor en el grupo de éster de propionato de inulina en comparación con la suplementación de control (Figura 15; $p = 0,040$). Asimismo, el tejido adiposo interno aumentó significativamente dentro del grupo de control ($p = 0,049$) y la proporción de tejido adiposo interno: el tejido adiposo subcutáneo se incrementó significativamente ($p = 0,002$). El lípido intrahepatocelular (IHCL) se redujo significativamente dentro del grupo de tratamiento con éster de propionato de inulina ($p = 0,038$), pero los cambios en IHCL, lípido intramiocelular sóleo y tibial (IMCL) no fue significativamente diferente entre los grupos de intervención. El análisis *in vitro* sugiere que los efectos protectores del éster de propionato de inulina sobre el aumento de peso y la distribución de grasa no se deben a cambios en las poblaciones bacterianas intestinales en comparación con el control (véase "Cambios microbianos intestinales en el éster de propionato de inulina y el control" a continuación y la Figura 16).

Cumplimiento de sujetos y eventos adversos

El cumplimiento del grupo de éster de propionato de inulina y el grupo de inulina fue similar durante el período total de 24 semanas. El cumplimiento medio, basado en el número de sobres sin abrir al final del estudio de 24 semanas, fue

de $95 \pm 7\%$ para el grupo de éster de propionato de inulina y $94 \pm 7\%$ para el grupo de inulina. El cumplimiento durante las semanas 0 a 8, 9 a 16 y 17 a 24 para el grupo de éster de propionato de inulina fue el siguiente: semanas 0 a 8: $96 \pm 9\%$; semanas 9 a 16: $96 \pm 6\%$; y semanas 17 a 24: $93 \pm 9\%$. El cumplimiento durante las semanas 0 a 8, 9 a 16 y 17 a 24 para el grupo de inulina fue el siguiente: semanas 0 a 8: $97 \pm 3\%$; semanas 9 a 16: $94 \pm 10\%$; y semanas 17 a 24: $92 \pm 13\%$.

Hubo un aumento significativo desde el inicio (control 9 ± 3 v $19,1 \pm 7$ p <0,05 éster de propionato de inulina 10 ± 4 v 14 ± 4 p <0,01) a 24 semanas en ayunas y área bajo curva (control 2355 ± 800 v 5000 ± 1480 p <0,05 éster de propionato de inulina 3146 ± 1137 v 4660 ± 1268 p <0,05) para la respiración de hidrógeno en ambos grupos, lo que sugiere el consumo de inulina o éster de propionato de inulina (véase la figura 17).

El perfil de efectos secundarios fue mayor en el grupo de control de inulina con un aumento significativo en la hinchazón y la flatulencia en la semana 24 que no se observó en el grupo de éster de propionato de inulina.

Ingesta de alimentos y liberación de hormonas intestinales

El tratamiento con éster de propionato de inulina redujo la ingesta de alimentos en un $8,7\%$ de 836 ± 56 kcal a 763 ± 54 kcal (p = 0,100). La suplementación de control redujo la ingesta de alimentos de 678 ± 69 kcal a 651 ± 64 kcal (p = 0,197), una reducción media del $4,0\%$. El cambio en la ingesta de alimentos no fue estadísticamente significativo entre los grupos (p = 0,416). No hubo diferencias en PYY en plasma (Δ AUC0-300min 1148 ± 712 pmol/l a 907 ± 556 pmol/l; p = 0,756) o liberación de GLP-1 (Δ AUC0-300min 4232 ± 1070 pmol/l a 3216 ± 847 pmol/l; p = 0,447) durante el período posprandial después de la suplementación con éster de propionato de inulina a largo plazo. PYY en plasma (Δ AUC0-300min 962 ± 869 pmol/l a 656 ± 880 pmol/l; p = 0,817) y GLP-1 (Δ AUC0-300min 3441 ± 843 pmol/l a 2278 ± 1000 pmol/l; p = 0,334) tampoco se vieron afectados por el tratamiento de control. El cambio en PYY (figura 14 (c); p = 0,965) y GLP-1 (véase la figura 14 (d); p = 0,993) la liberación no fue significativamente diferente entre los grupos de tratamiento

Homeostasis de glucosa

El cambio en la respuesta de glucosa posprandial al desayuno estandarizado en la semana 24 fue significativamente diferente entre los grupos (figura 18; p = 0,037). La respuesta glucémica fue significativamente mayor después de la suplementación de control (AUC0-300min 1600 ± 51 pmol/l a 1691 ± 54 pmol/l; p = 0,010) y sin cambios después del tratamiento con éster de propionato de inulina (AUC0-300min 1630 ± 50 pmol/l a 1630 ± 42 pmol/l; p = 0,993), de acuerdo con las diferencias en el aumento de peso y la distribución de grasa corporal experimentadas dentro de los grupos. La respuesta a la insulina no fue significativamente diferente después del tratamiento con éster de propionato de inulina (AUC0-300min 7684 ± 881 μ U/ml a 7969 ± 971 μ U/ml; p = 0,612) o control (AUC0-300min 9285 ± 882 μ U/ml a 8781 ± 731 μ U/ml; p = 0,464) y el cambio en la respuesta a la insulina no fue significativamente diferente entre los grupos (figura 19; p = 0,372).

Factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes

La suplementación con éster de propionato de inulina redujo significativamente el colesterol total (p <0,001), LDL (p <0,001), HDL (p = 0,004), alanina transaminasa (p = 0,015), fosfatasa alcalina (p <0,001) y aspartato transaminasa (p = 0,007). El colesterol total (p = 0,014), HDL (p <0,001), alanina transaminasa (p <0,001) y fosfatasa alcalina (p <0,001) se redujeron significativamente de los valores basales en el grupo de control. El éster de propionato de inulina y los tratamientos de control no tuvieron un efecto significativo sobre las concentraciones de glucosa en ayunas, insulina, HbA1c y triglicéridos (Figura 14).

Cambios microbianos intestinales en el éster de propionato de inulina y control

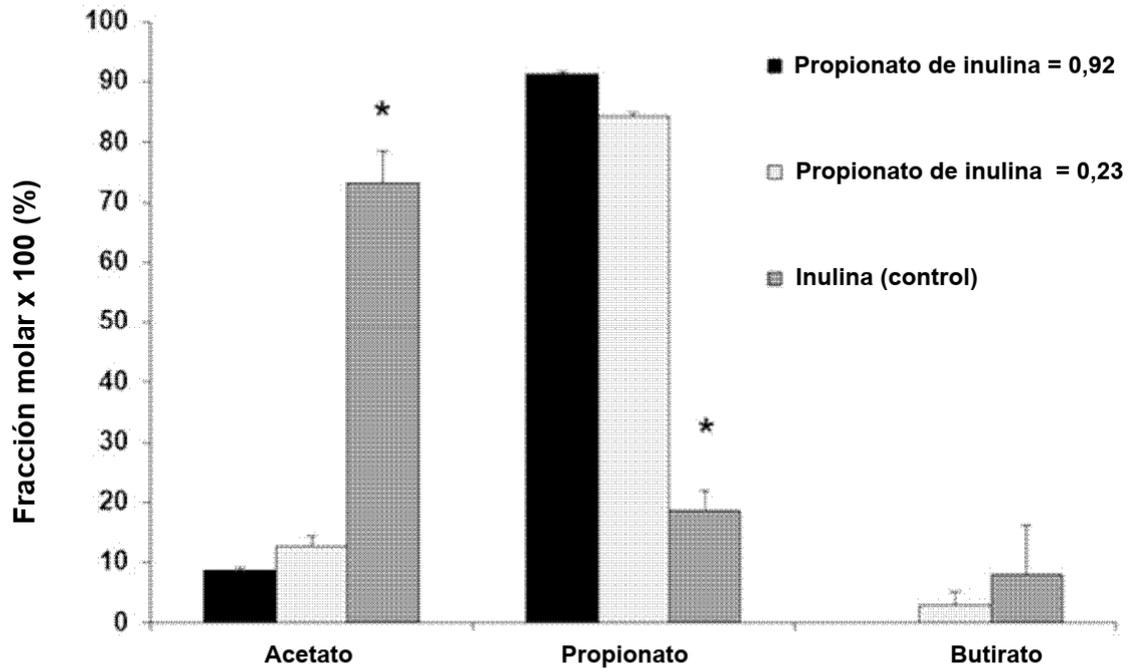
El control de inulina aumentó significativamente las células marcadas con Bif164 en todos los puntos temporales en comparación con el punto de referencia. Los niveles de Bif164 con control fueron significativamente mayores en comparación con las concentraciones en cultivos de éster de propionato de inulina durante la fermentación. Tanto el éster de propionato de inulina como el control de inulina mediaron aumentos significativos en las células marcadas con Bac303 en todos los puntos de muestreo en comparación con los niveles de referencia. Las células marcadas con Ato291 aumentaron significativamente con ambos sustratos de prueba entre 10 y 34 h de fermentación de cultivo discontinuo en comparación con las concentraciones de referencia. No se observaron otros cambios significativos en ninguno de los grupos objetivo o niveles totales de bacterias. Parece que el éster de propionato de inulina es fermentable por Bacteroides y Atopobium pero no es metabolizado por Bifidobacterium spp. La Figura 16 muestra estos resultados.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un éster de propionato de inulina para su uso en la terapia para la reducción del apetito, ingesta de alimentos y/o ingesta de calorías y/o para mejorar la sensibilidad a la insulina en un sujeto; y/o para su uso en el tratamiento o prevención de obesidad o diabetes.
- 10 2. Uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina para la reducción del apetito, ingesta de alimentos y/o ingesta de calorías en un sujeto.
- 15 3. Uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina según se reivindica en la reivindicación 2, en donde el uso es en un sujeto con un IMC normal.
- 20 4. Un éster de propionato de inulina para su uso según se reivindica en la reivindicación 1, o un uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina como se reivindica en 2 o 3, en donde el grado de sustitución del éster de propionato de inulina está entre 0,2 y 1, por ejemplo, entre 0,55 y 1.
- 25 5. Un compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 1 o 4, o un uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el compuesto se administra en una cantidad que proporciona desde aproximadamente 0,1 mg de éster de propionato de inulina por kilogramo (kg) de peso corporal hasta aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal y/o en donde el compuesto se administra a un sujeto en una dosis diaria de entre 5 g y 20 g.
- 30 6. Un compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1, 4 o 5, o un uso no terapéutico de un éster de propionato de inulina según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en donde el compuesto se administra por vía oral, y/o en donde el compuesto se añade a los alimentos y/o se usa como aditivo alimentario.
- 35 7. Un compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 4 a 6, en donde el sujeto tiene sobrepeso, por ejemplo, es obeso, y/o en donde el sujeto es diabético.
- 40 8. Un alimento funcional que contiene de 100 mg a 20 g o de 1 g a 50 g de éster de propionato de inulina.
- 45 9. Un compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 1 o 4, en donde el compuesto se administra con una cantidad terapéuticamente eficaz de otro agente, por ejemplo, un supresor del apetito adicional, un agente reductor de la ingesta de alimentos adicional, un agente reductor de glucosa en plasma o un agente alterador de lípidos en plasma.
- 50 10. Una composición farmacéutica para administración oral que comprende
- 55 - una cantidad terapéuticamente eficaz de un éster de propionato de inulina, y
- uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 60 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10, en donde el nivel de propionato no unido en el éster de propionato de inulina es inferior al 1 %.
- 65 12. La composición farmacéutica de la reivindicación 10 u 11, en donde la composición es una cápsula o comprimido que contiene una cantidad predeterminada del éster de propionato de inulina; o la composición es un polvo o gránulos, y además comprende un agente saborizante; o la composición es una solución o una suspensión en un líquido acuoso o un líquido no acuoso, y además comprende un agente saborizante.
- 70 13. Un kit que comprende:
- 75 - un éster de propionato de inulina, y
- un supresor del apetito adicional,
- los dos (o más) componentes son para coadministración simultáneamente, separada o secuencialmente.
- 80 14. Una composición que comprende
- un éster de propionato de inulina, y
- un supresor del apetito adicional.
- 85 15. Un éster de propionato de inulina para su uso como medicamento.

16. Un éster de propionato de inulina en donde el nivel de propionato no unido en el éster de propionato de inulina es inferior al 1 %.
- 5 17. El éster de propionato de inulina de la reivindicación 16, en donde el éster de propionato de inulina tiene un grado de sustitución entre 0,55 y 1.
18. Un éster de propionato de inulina con un grado de sustitución entre 0,55 y 1, y en donde el grado medio de polimerización de la inulina es entre 20 y 30.
- 10 19. Un éster de propionato de inulina con un grado de sustitución de 0,7.
20. Un método para preparar un éster de propionato de inulina que comprende disolver inulina en agua, por ejemplo, a entre 70 y 80 °C, para dar una concentración de entre 1 y 2 moles de equivalentes de fructosa por litro, bajando la temperatura de la solución a entre 10 y 20 °C, añadiendo anhídrido propiónico y una base acuosa de metal alcalino con una concentración entre 20 y 100 % p/v a la solución mientras se mantiene la temperatura de la solución entre 10 y 20 °C y el pH de la solución entre pH 8 y 8,5; para dar el grado deseado de sustitución, el número de moles de anhídrido propiónico añadido a la inulina se calcula como: número de moles de unidades equivalentes de fructosa en solución x grado de sustitución objetivo x 1,25.
- 15
- 20 21. Un método para purificar un éster de propionato de inulina, que comprende la disolución de éster de propionato de inulina en agua, ajustando el pH de la solución a pH 2 con ácido fuerte concentrado, haciendo pasar la solución por una columna de carbón activado lavada y acondicionada con ácido fuerte 0,2 M, recuperando la solución de la columna, ajustando a pH 2 con ácido fuerte concentrado, haciendo pasar la solución por una segunda columna de carbón activado lavada y acondicionada con ácido fuerte 0,2 M, recuperando la solución de la columna, ajustando a pH 2 con ácido fuerte concentrado y secando por pulverización.
- 25

Figura 1



* = $p < 0,05$

Figura 2

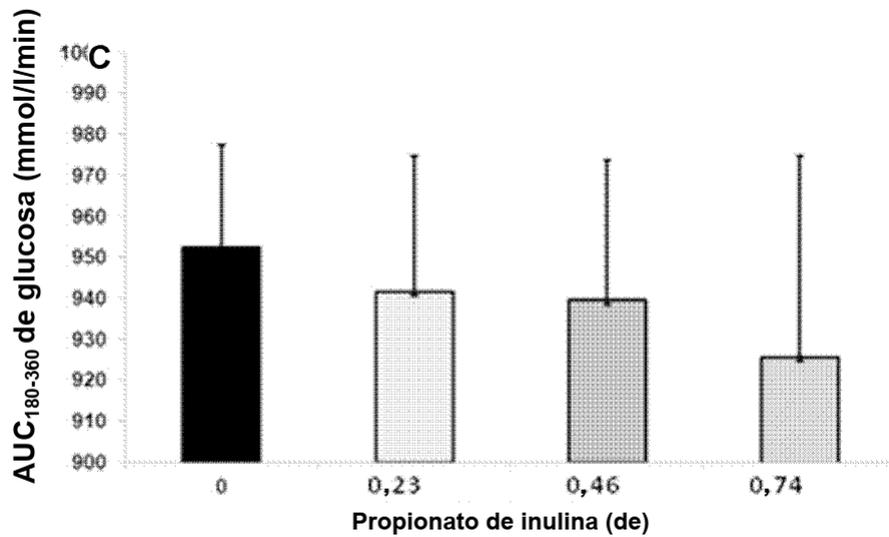
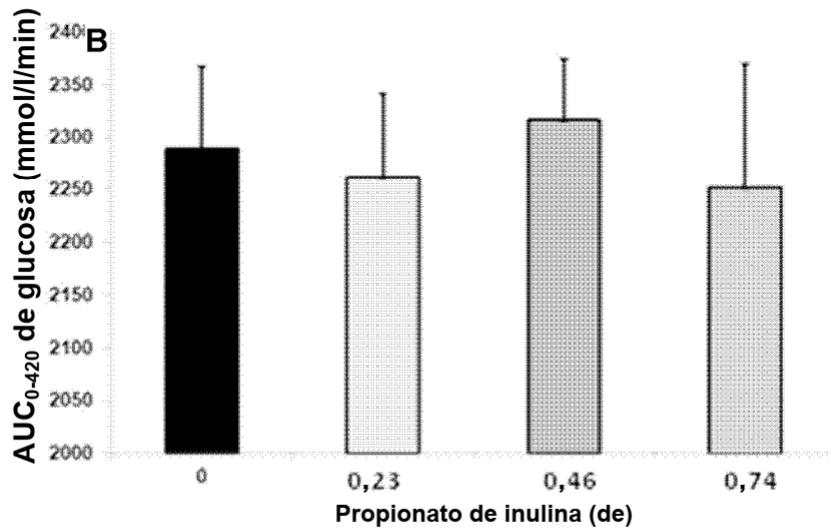
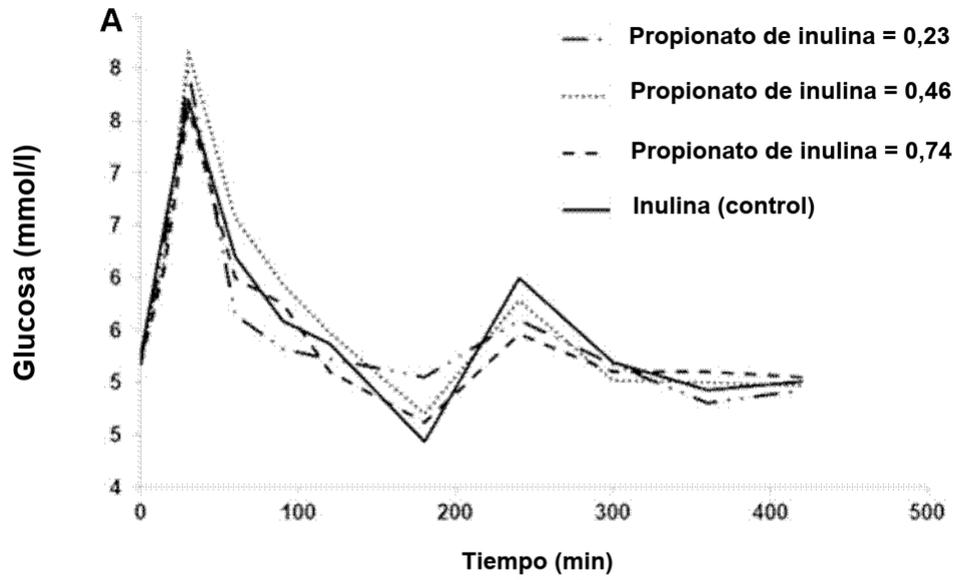


Figura 3

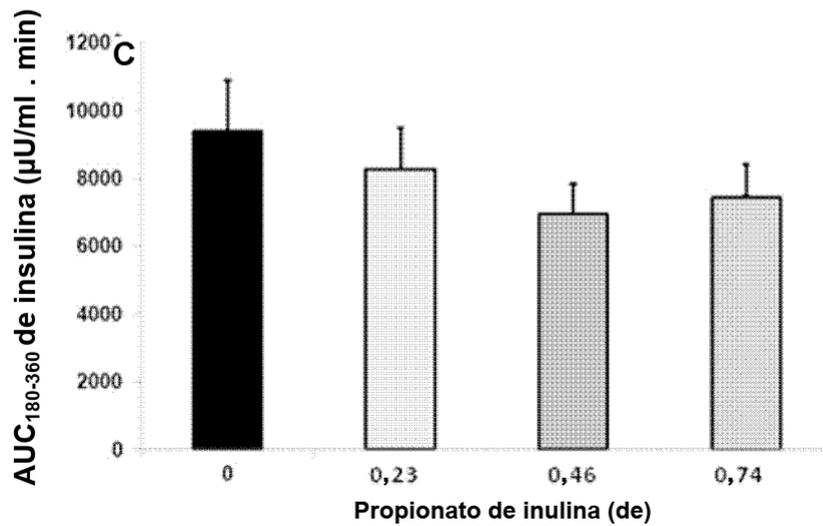
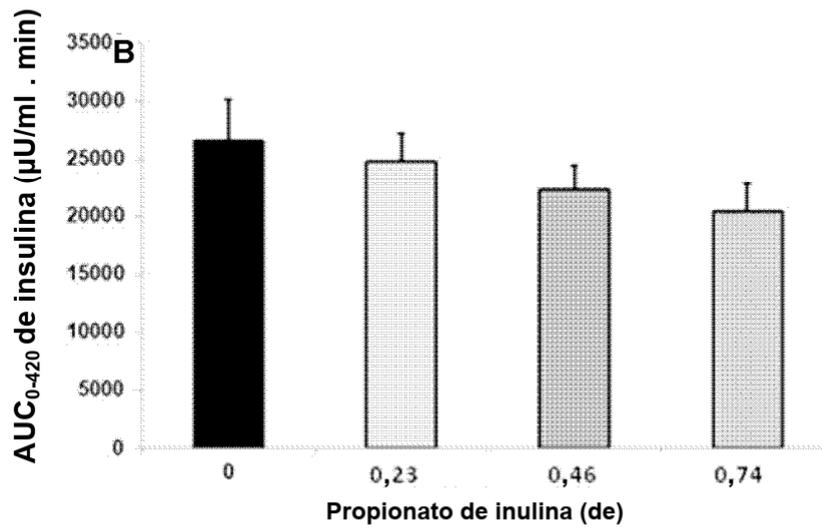
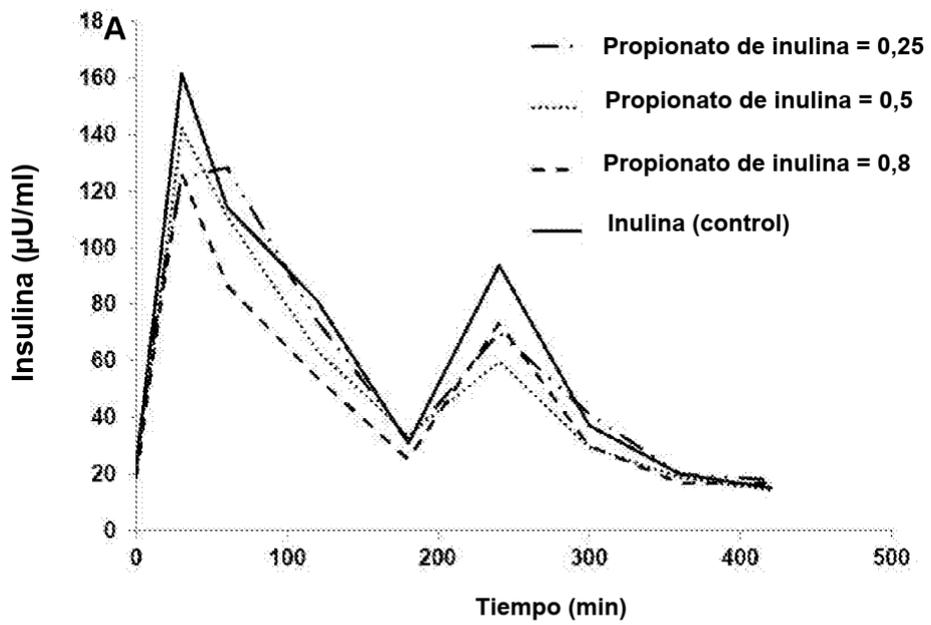
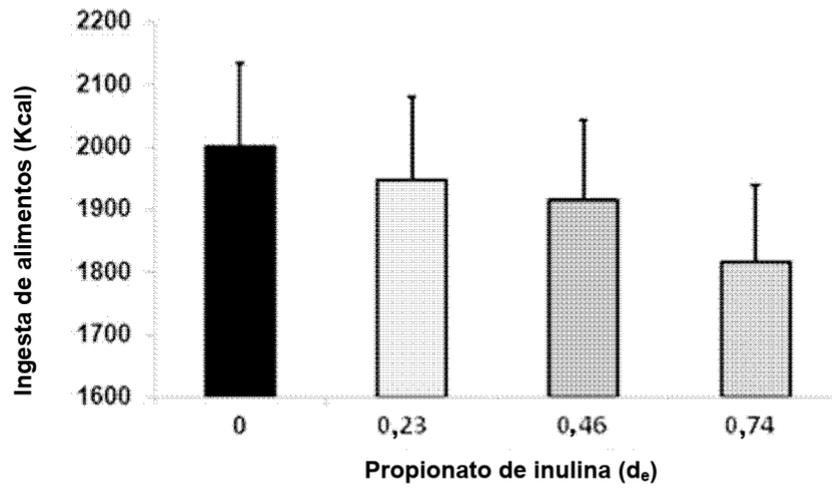


Figura 4

A



B

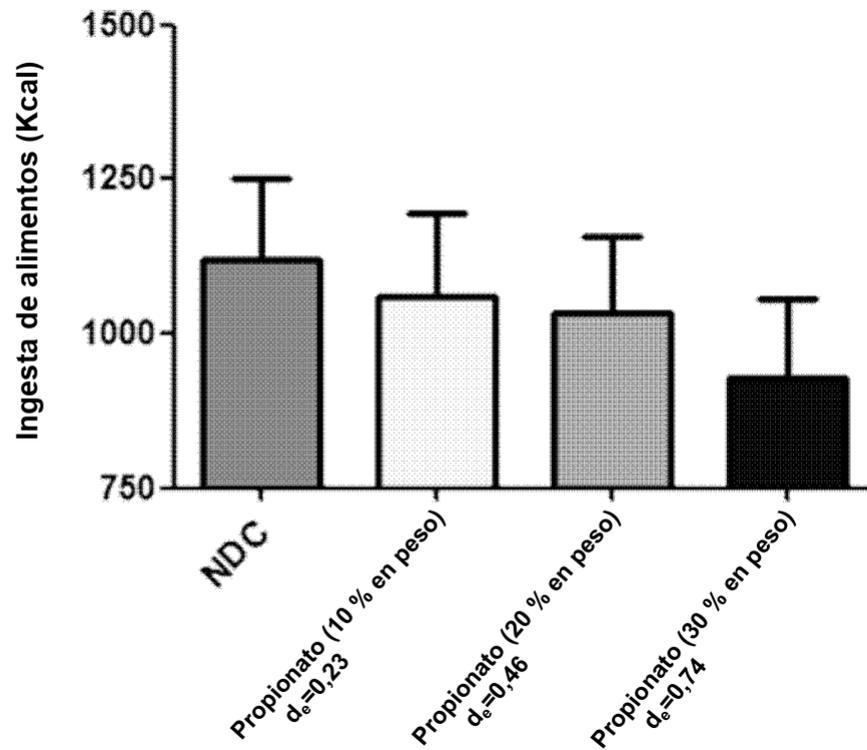
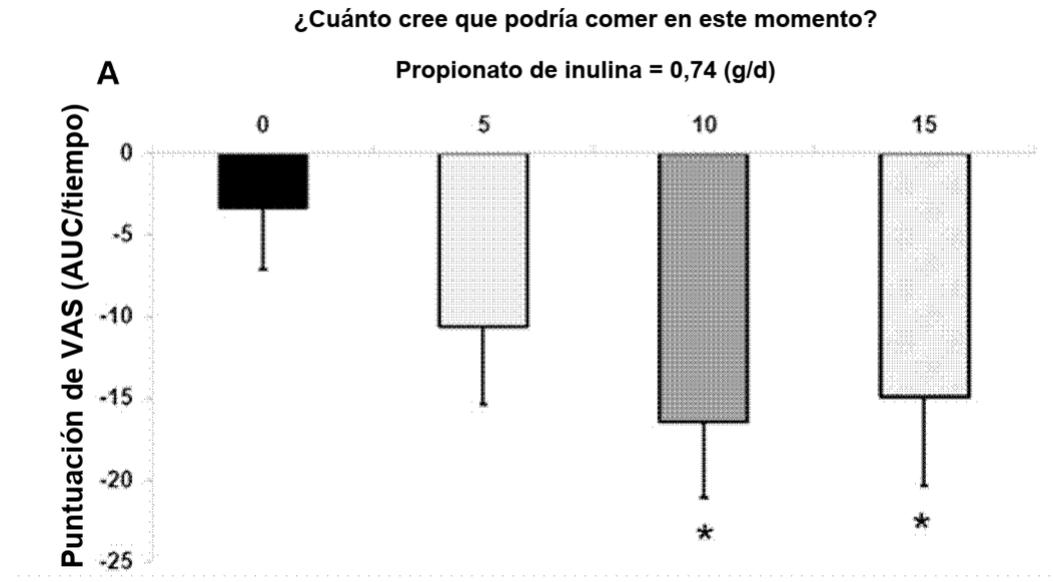


Figura 5



* = $p < 0,05$

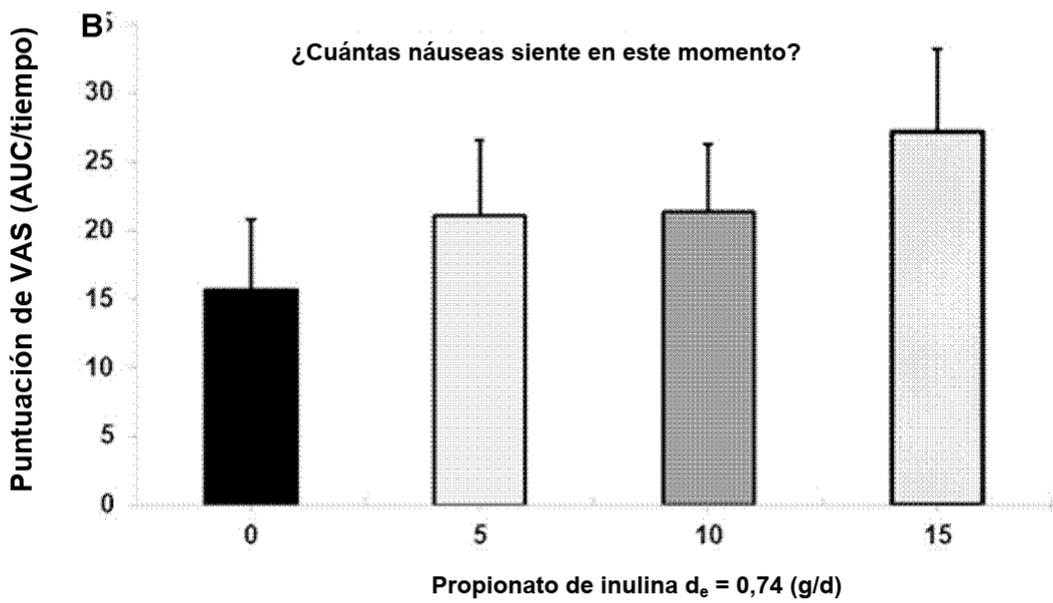


Figura 6

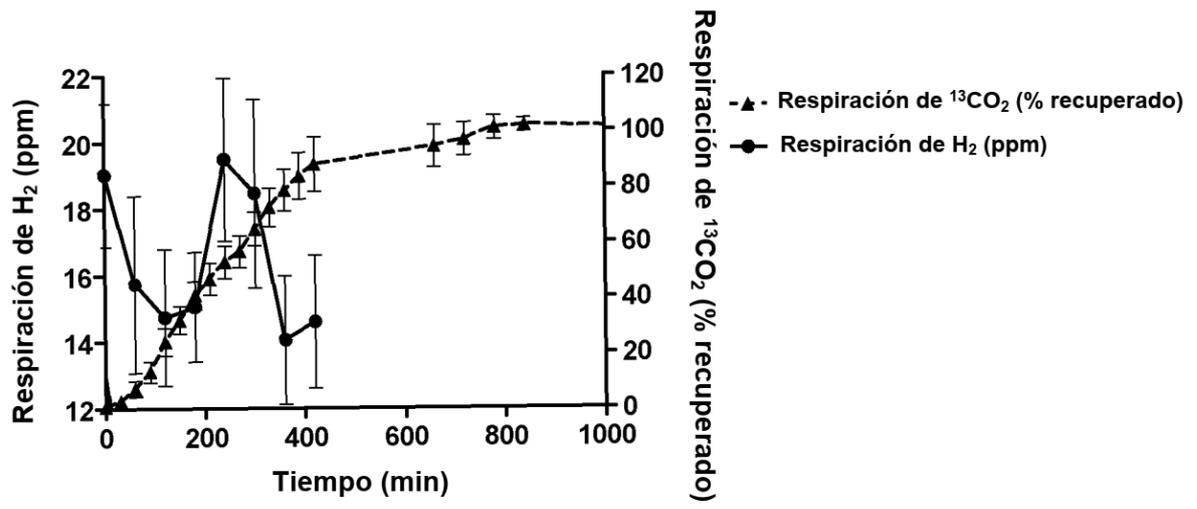
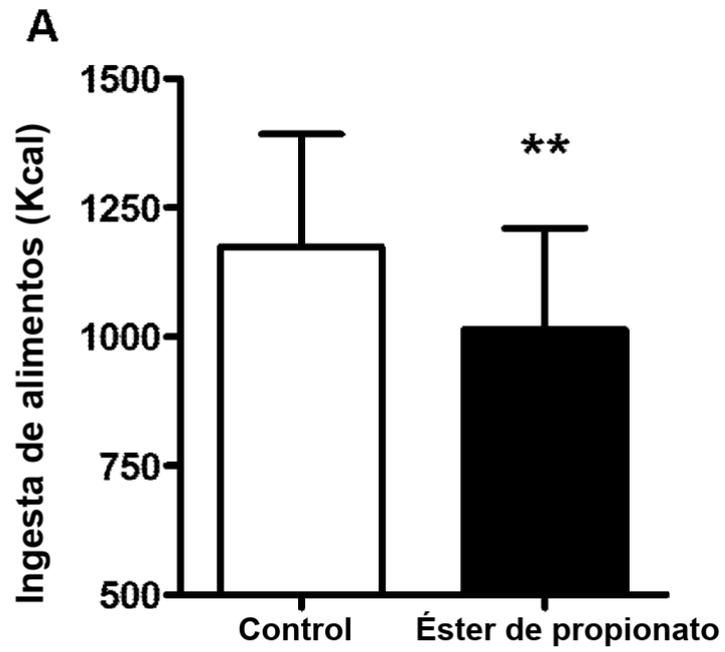


Figura 7



** = $p > 0,05$

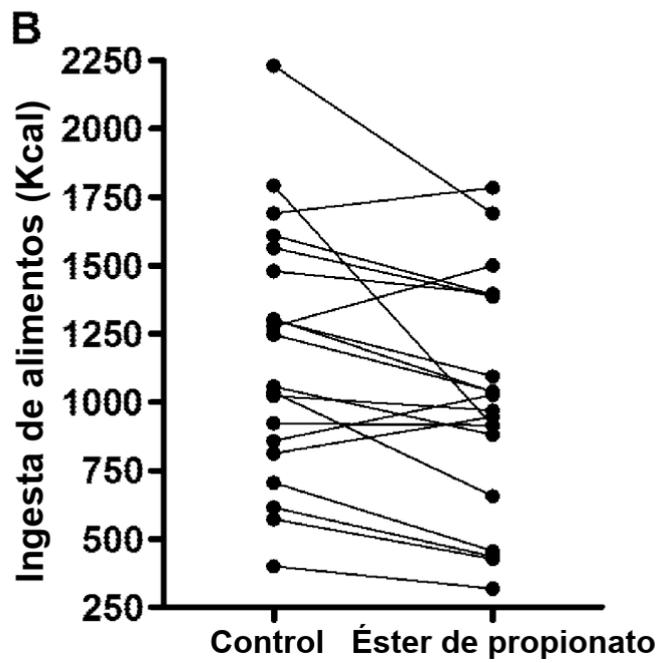
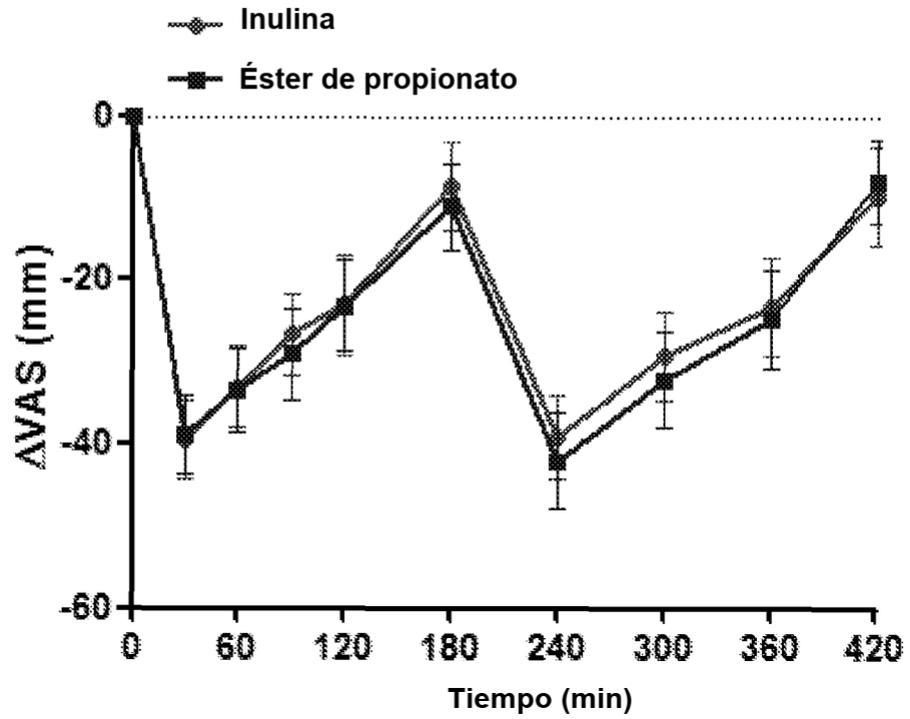


Figura 8

a) ¿Cuánta hambre tiene en este momento?



b) ¿Cuántas náuseas siente en este momento?

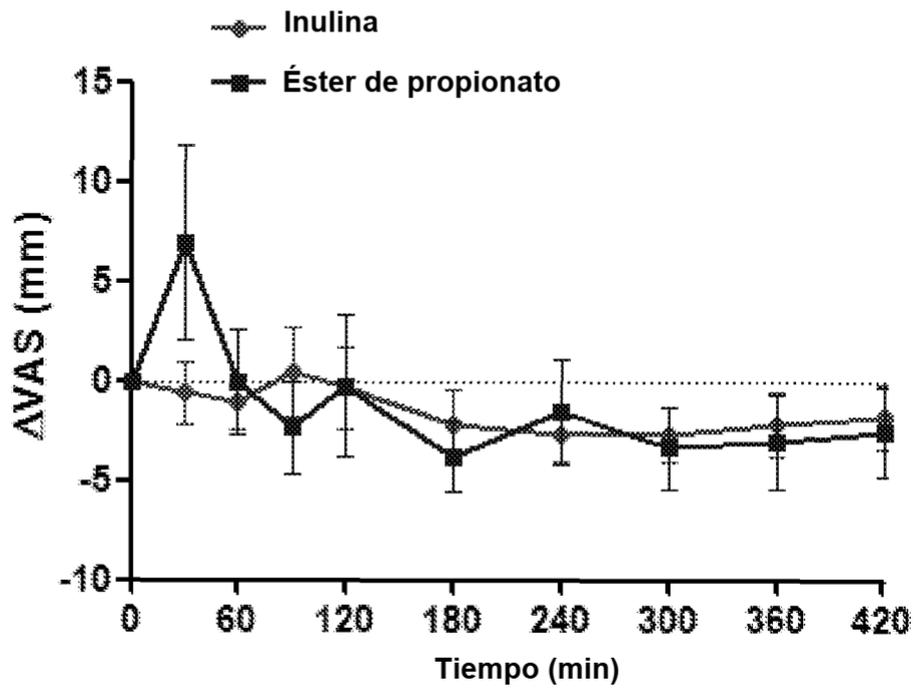
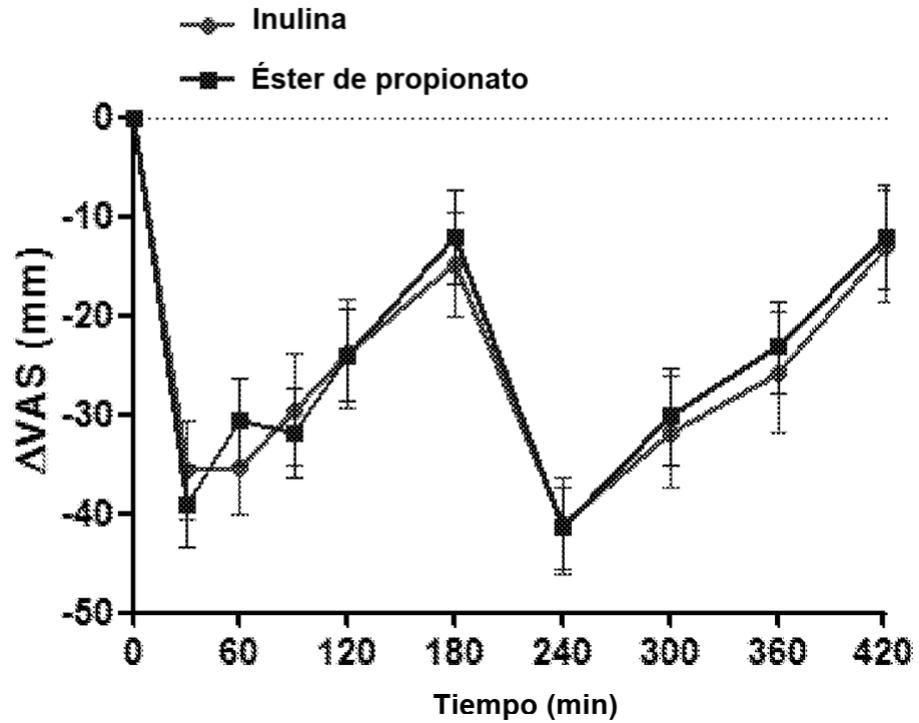


Figura 8 continuación

c) ¿Cómo de satisfactorio sería comer en este momento?



d) ¿Cuánto cree que podría comer en este momento?

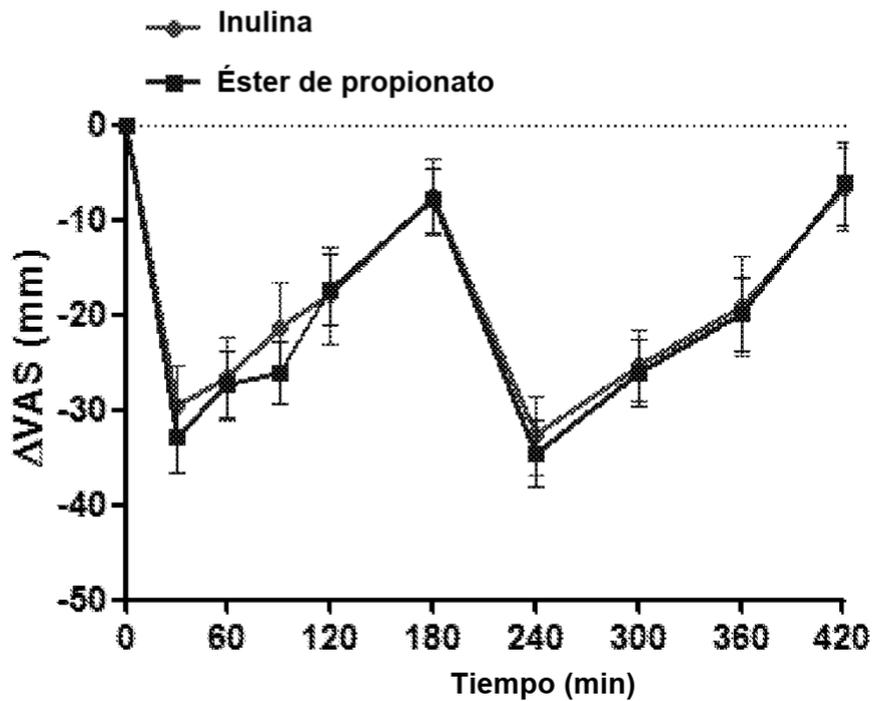


Figura 8 continuación

e) ¿Cómo de saciado se encuentra en este momento?

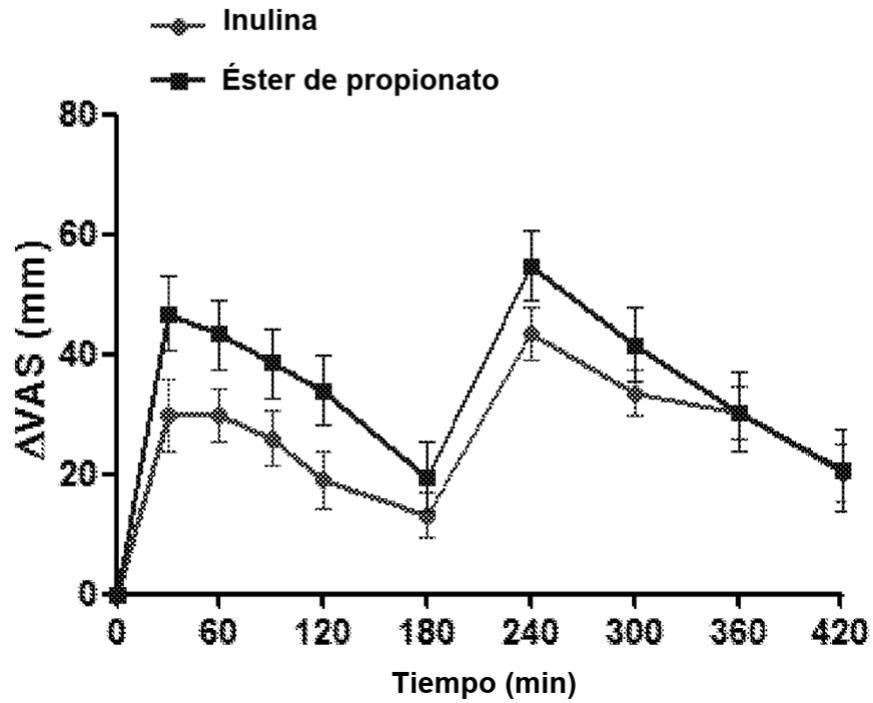


Figura 9

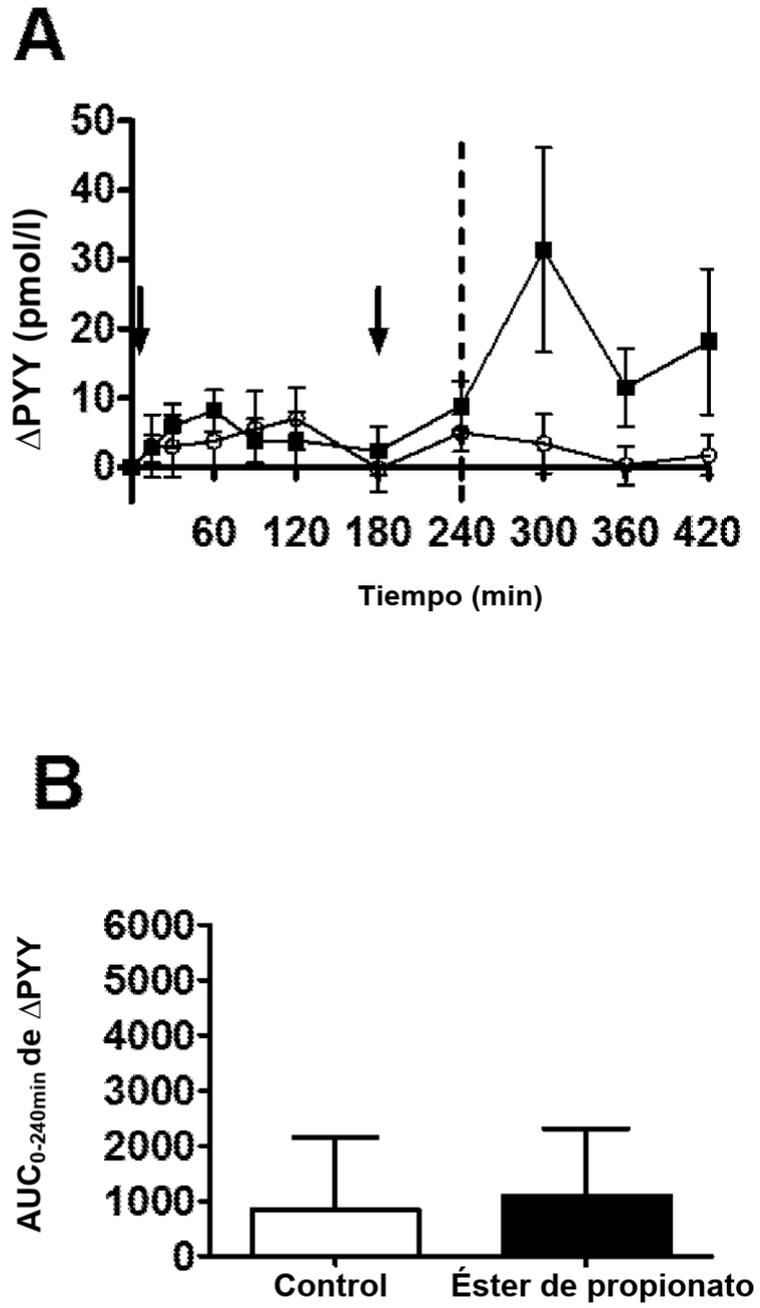
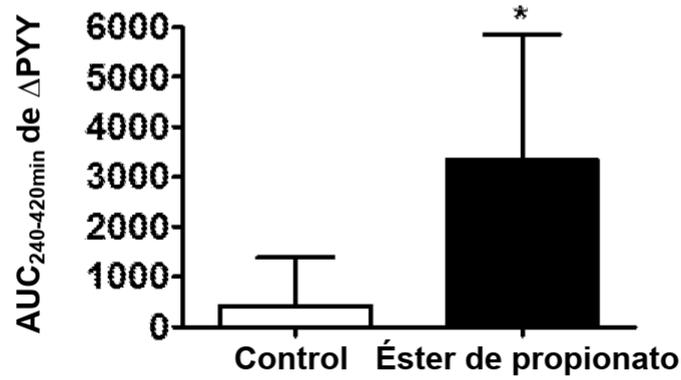


Figura 9 continuación

C



* = p > 0,05

D

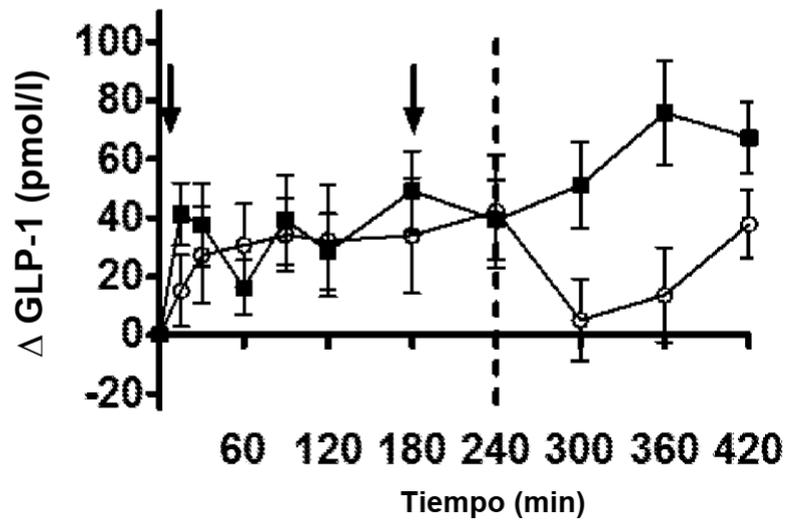
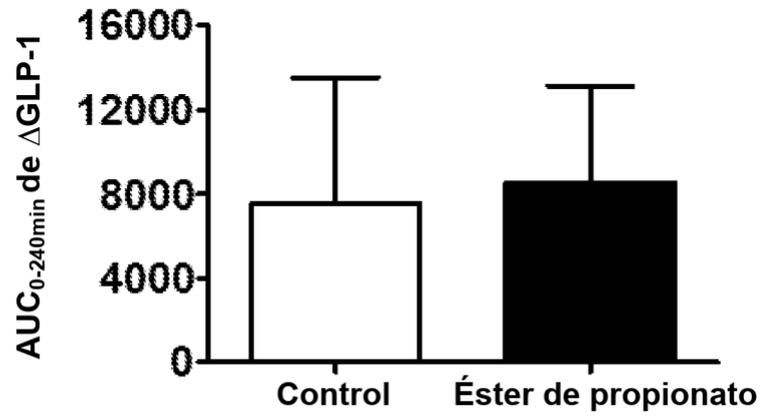
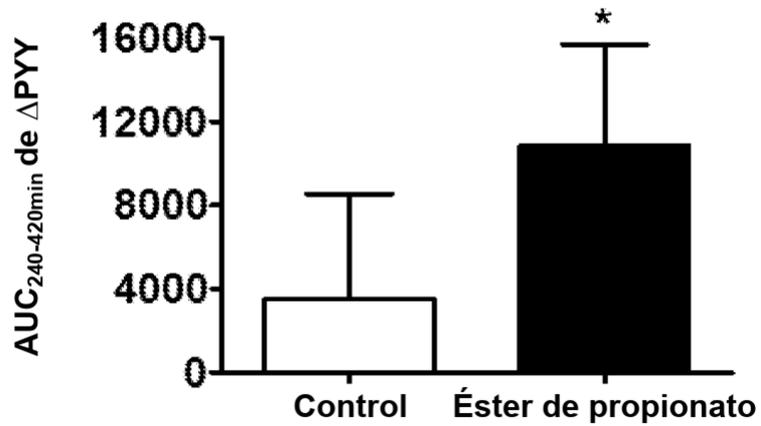


Figura 9 continuación

E

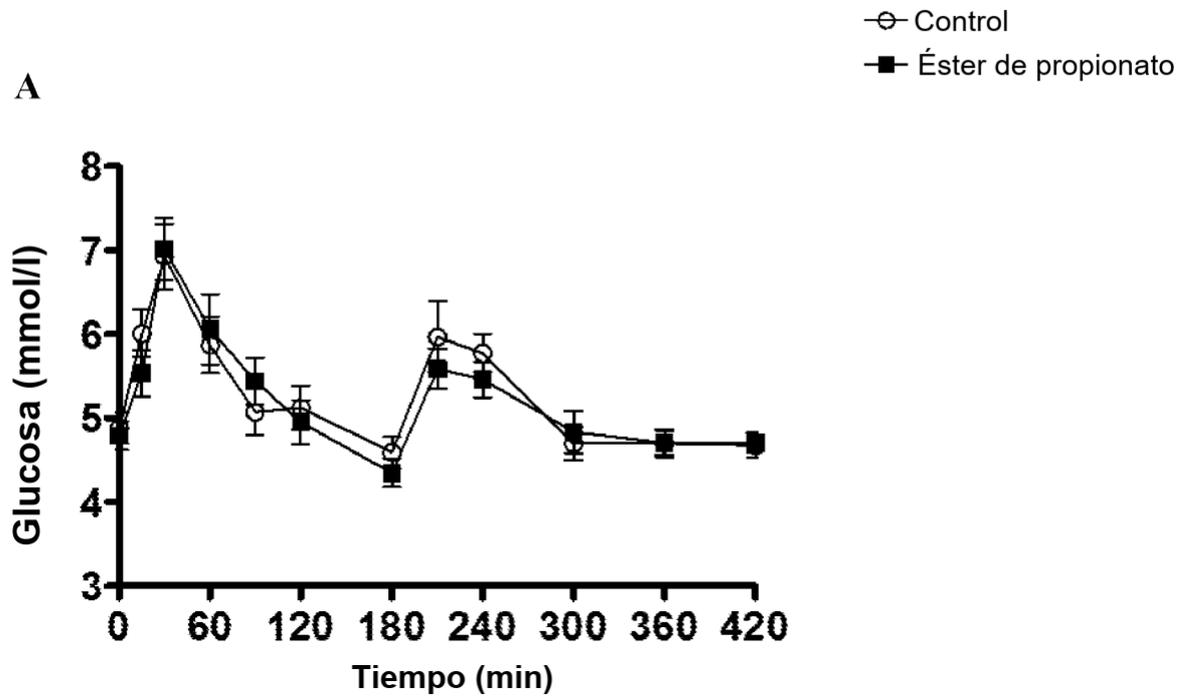


F



* = $p > 0,05$

Figura 10



B

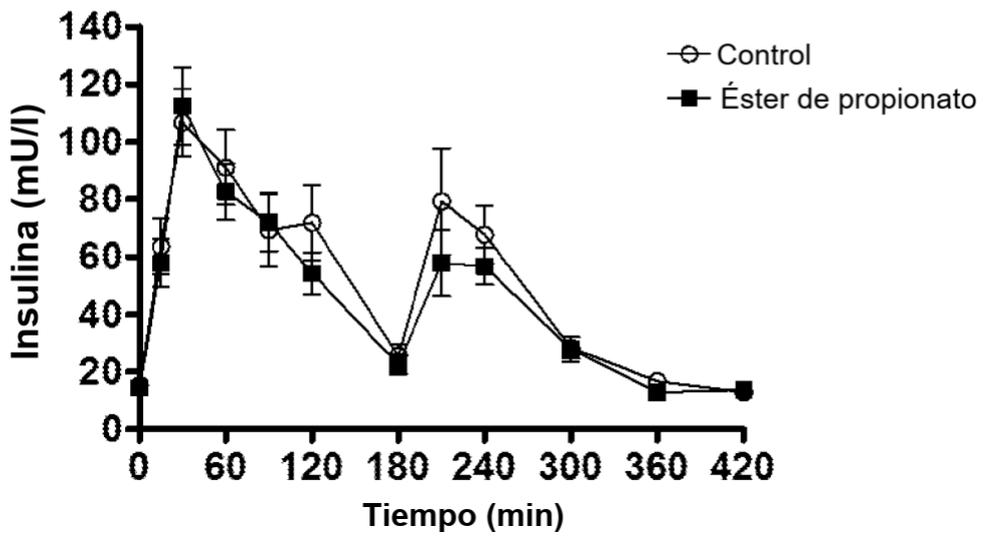
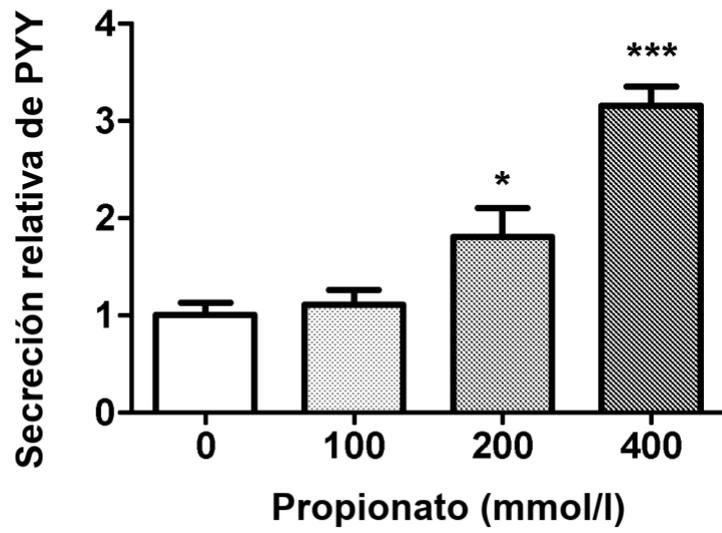


Figura 11

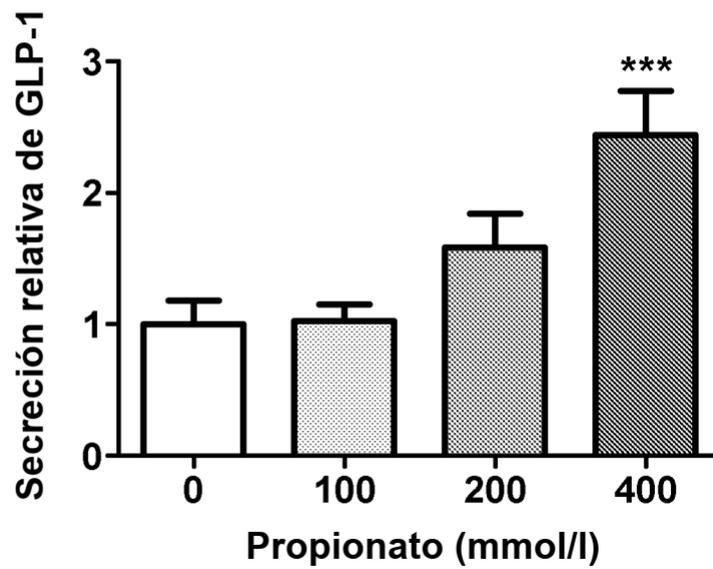
A



* = p > 0,05

*** = p > 0,001

B



*** = p > 0,001

Figura 12

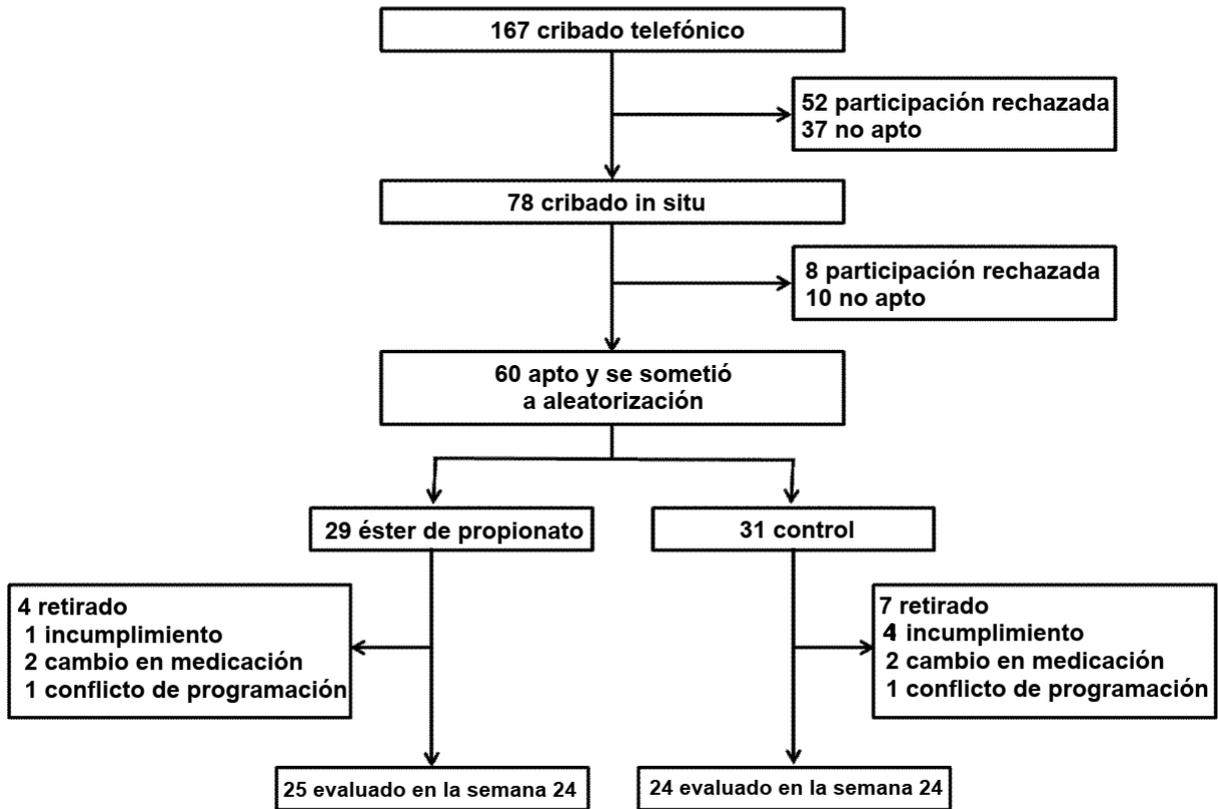
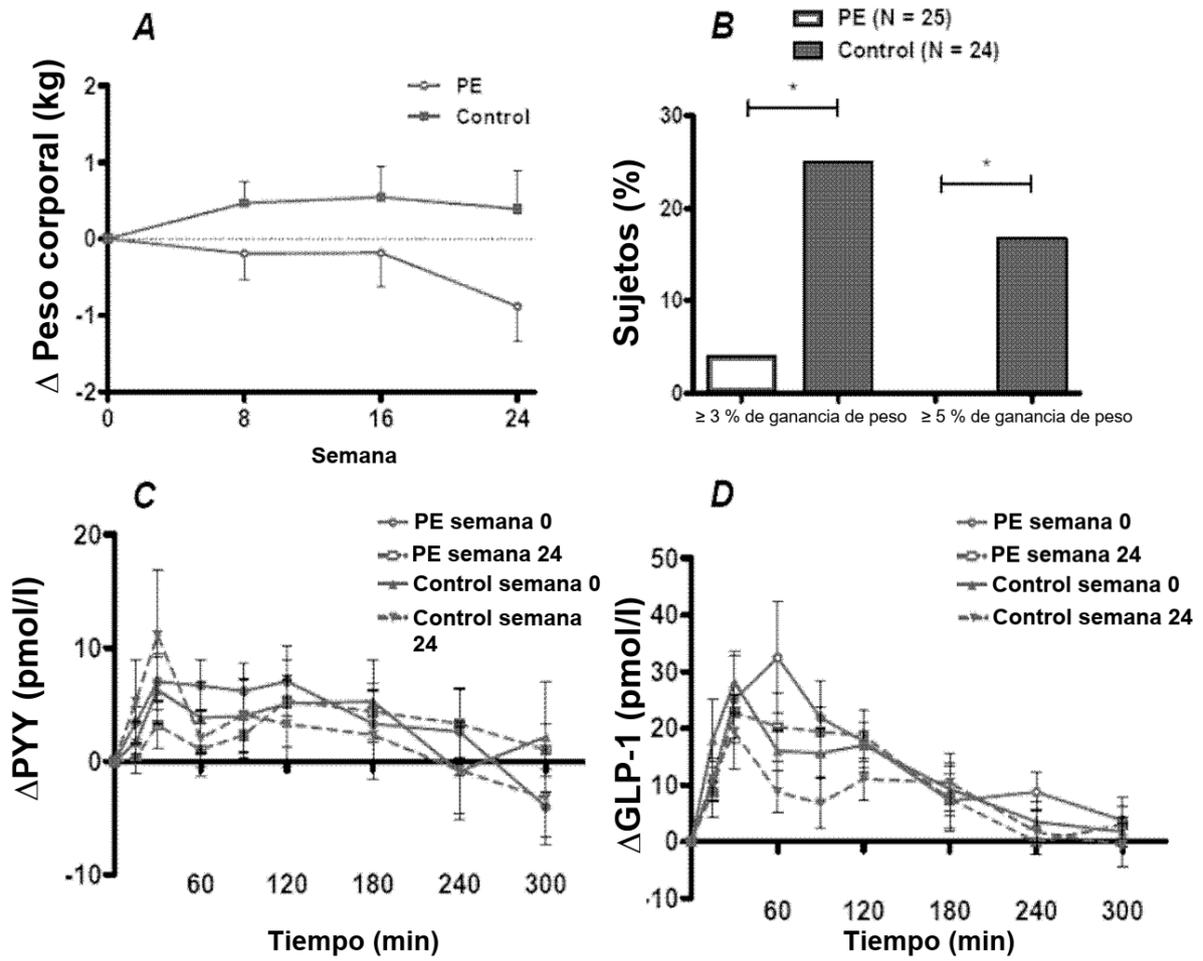


Figura 13

	Éster de propionato (N = 25)			Control (N = 24)			Valor de P (Éster de propionato vs. Control)
	Semana 0	Semana 24 de P	Valor de P	Semana 0	Semana 24 de P	Valor de P	
Sexo (n.º de sujetos)							
Hombre	10			9			
Mujer	15			15			
Raza o etnicidad (n.º de sujetos)							
Blanco	16			18			
Negro	4			2			
Asiático	5			4			
Edad (año)	55,3 ± 7,0			53,4 ± 7,5			
Peso (kg)	88,5 ± 14,6	87,4 ± 14,8	0,062	91,0 ± 13,9	91,4 ± 14,7	0,558	0,097
Índice de masa corporal (kg/m²)	30,6 ± 3,5	30,2 ± 3,3	0,066	31,9 ± 3,7	31,8 ± 3,5	0,544	0,091
Glucosa (mmol/l)	5,0 ± 0,5	5,0 ± 0,5	0,898	5,0 ± 0,5	5,0 ± 0,6	0,624	0,648
Insulina (µU/ml)	9,0 ± 4,6	8,8 ± 3,9	0,702	10,2 ± 3,9	10,0 ± 3,1	0,716	0,935
HOMA-IR	2,0 ± 1,1	2,0 ± 0,9	0,643	2,3 ± 1,0	2,2 ± 0,9	0,808	0,946
HbA1c (mmol/mol)	38,2 ± 3,3	37,8 ± 3,5	0,297	37,6 ± 2,6	37,1 ± 2,4	0,086	0,968
Triglicéridos (mmol/l)	1,5 ± 0,8	1,4 ± 0,7	0,224	1,4 ± 0,8	1,6 ± 1,2	0,266	0,100
Colesterol (mmol/l)			<0,00				
Total	5,5 ± 1,0	5,1 ± 1,0	1	5,3 ± 0,9	5,0 ± 0,9	0,014	0,480
Lipoproteína de baja densidad	3,5 ± 0,9	3,2 ± 0,8	0,001	3,3 ± 0,8	3,1 ± 0,9	0,126 <0,00	0,622
Lipoproteína de alta densidad	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,2	0,004	1,4 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1	0,677
Pruebas de función hepática (IU/l)							
Alanina Transaminasa	28,3 ± 13,5	23,9 ± 11,7	0,015	34,5 ± 19,4	27,0 ± 14,9	0,001	0,202
Alcalina Fosfatasa	75,8 ± 17,9	70,5 ± 16,3	<0,00 1	78,1 ± 17,2	71,7 ± 16,5	<0,00 1	0,565
Aspartato Transaminasa	28,5 ± 5,2	25,6 ± 4,4	0,007	29,0 ± 6,9	30,6 ± 12,3	0,540	0,119

Figura 14



*P = <0,05

Figura 15

Distribución de TA	Éster de propionato (N = 17)			Control (N = 15)			Valor de P (Éster de propionato vs. Control)
	Semana 0	Semana 24	Valor de P	Semana 0	Semana 24	Valor de P	
(% de TA total)	76,3 ± 1,3	76,0 ± 1,6	0,633	81,3 ± 1,9	80,6 ± 1,8	0,002	0,385
TA subcutáneo	23,7 ± 1,7	24,0 ± 1,6	0,518	18,7 ± 1,9	19,4 ± 1,8	0,001	0,277
TA interno	13,2 ± 1,2	13,1 ± 1,1	0,977	10,6 ± 1,3	11,1 ± 1,4	<0,001	0,040
Abdominal	21,9 ± 0,7	21,6 ± 0,7	0,170	23,1 ± 0,9	22,7 ± 0,8	0,314	0,936
TA subcutáneo Abdominal	15,75 ± 4,86	11,50 ± 3,55	0,038	7,83 ± 2,77	7,42 ± 2,43	0,515	0,139
¹ H-MRS (Media Geométrica)	21,80 ± 2,96	23,95 ± 3,72	0,273	18,75 ± 1,91	18,78 ± 1,71	0,864	0,362
IHCL	9,07 ± 0,98	9,48 ± 0,88	0,657	10,03 ± 1,44	10,26 ± 1,06	0,732	0,963
IMCL del sóleo							
IMCL tibial							

TA, tejido adiposo; MRS, espectroscopía por resonancia magnética; IHCL, lípido intrahepatocelular; IMCL, lípido intramiocelular. Media ± SEM.

Figura 16

		Concentración bacteriana (Log ₁₀ células/ml de fluido de cultivo)													
Tratamiento	Tiempo (h)	Sonda													
		Biff64	Bac303	Atc201	Lab158	Chis150	Erec482	EUB338	II	III	III				
A Éster de propionato (de = 0,74)	0	8,57	(0,09)	8,67	(0,17)	8,61	(0,16)	7,07	(0,19)	7,88	(0,09)	8,91	(0,19)	9,75	(0,07)
	10	8,62	(0,10)	9,07±	(0,12)	8,90	(0,35)	7,07	(0,39)	7,84	(0,28)	9,06	(0,24)	9,87	(0,08)
	24	8,34	(0,14)	9,50±	(0,03)	9,65±	(0,36)	7,52	(0,34)	8,00	(0,24)	8,72	(0,47)	10,10	(0,08)
	34	8,62	(0,28)	9,80±	(0,10)	9,81*	(0,06)	7,25	(0,23)	8,00	(0,61)	8,97	(0,38)	9,69	(0,01)
	48	8,81	(0,38)	9,76±	(0,10)	9,64±	(0,26)	7,21	(0,39)	8,08	(0,23)	9,05	(0,43)	10,24	(0,09)
B Control de inulina	0	8,57	(0,09)	8,67	(0,17)	8,61	(0,16)	7,07	(0,19)	7,88	(0,09)	8,91	(0,19)	9,75	(0,07)
	10	9,36±	(0,14)	9,37±	(0,16)	9,11±	(0,06)	7,36	(0,23)	7,76	(0,31)	8,46	(0,21)	10,43	(0,17)
	24	9,37±	(0,27)	9,42±	(0,15)	9,60±	(0,25)	7,62	(0,34)	7,76	(0,30)	8,75	(0,17)	9,96	(0,11)
	34	9,43±	(0,12)	9,49±	(0,08)	9,52*	(0,19)	7,49	(0,27)	7,69	(0,54)	9,01	(0,21)	10,57	(0,09)
	48	9,59±	(0,22)	9,21±	(0,10)	9,33	(0,50)	7,06	(0,55)	7,42	(0,13)	9,09	(0,17)	10,46	(0,13)
C Control sin sustrato	0	8,57	(0,09)	8,67	(0,17)	8,61	(0,16)	7,07	(0,19)	7,88	(0,09)	8,91	(0,19)	9,75	(0,07)
	10	8,30	(0,06)	8,61	(0,02)	8,74	(0,32)	7,44	(0,23)	7,80	(0,12)	8,46	(0,14)	9,76	(0,04)
	24	8,30	(0,20)	8,74	(0,10)	9,06	(0,04)	7,61	(0,14)	7,65	(0,25)	8,25	(0,27)	10,51	(0,14)
	34	8,36	(0,17)	8,91	(0,25)	8,84	(0,12)	7,50	(0,24)	7,86	(0,17)	8,45	(0,28)	10,39	(0,02)
	48	8,16	(0,05)	8,75	(0,27)	8,91	(0,16)	7,38	(0,32)	7,56	(0,05)	8,58	(0,20)	9,81	(0,14)

Figura 17

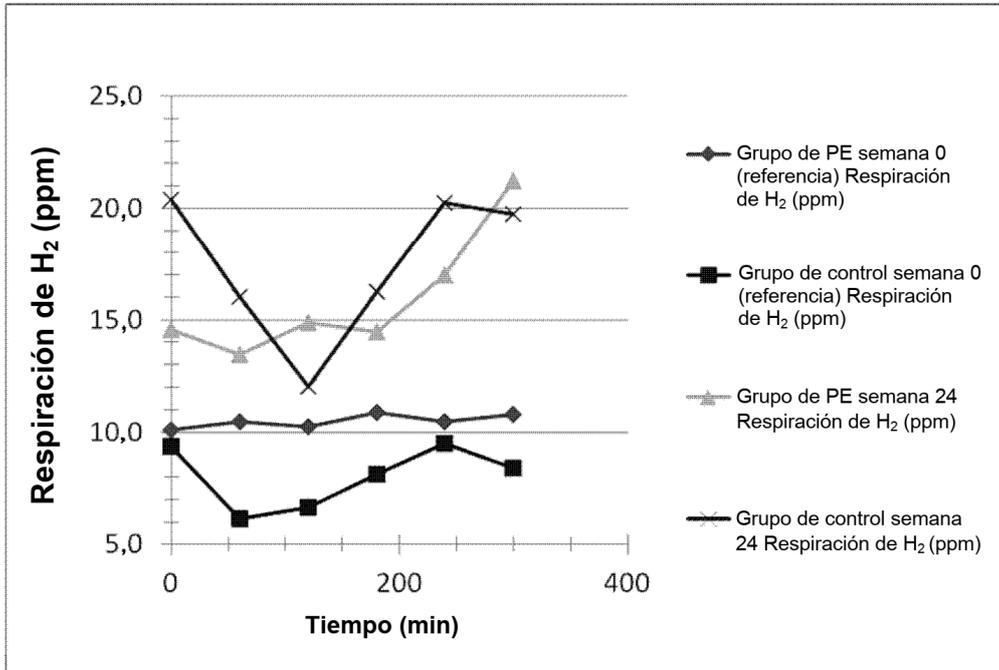
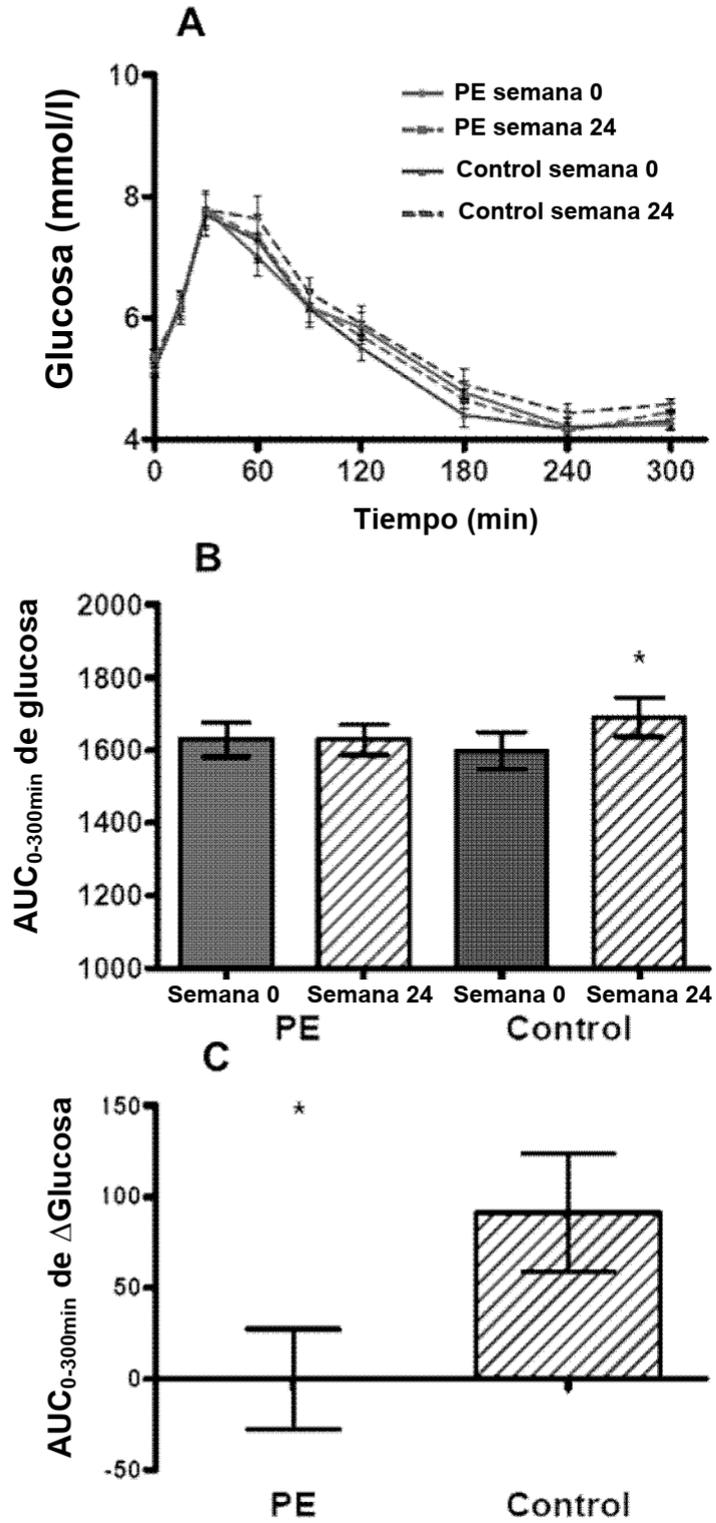


Figura 18



*P = <0,05

Figura 19

