

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192668** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.02.07

(51) Int. Cl. *A61K 35/744* (2015.01)
A61K 38/47 (2006.01)
A61P 1/14 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.03.31

(54) **СПОСОБ И КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ
НЕПЕРЕНΟΣИМОСТИ ГЛЮТЕНА**

(31) 62/827,955

(32) 2019.04.02

(33) US

(86) PCT/US2020/025974

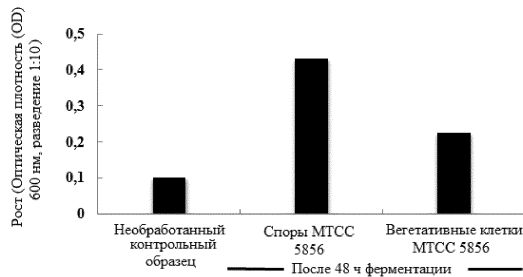
(87) WO 2020/205871 2020.10.08

(71) Заявитель:
САМИ-САБИНСА ГРУП ЛИМИТЕД
(IN)

(72) Изобретатель:
Маджид Мухаммед (IN),
Нагабхушанам Кальянам (US), Биде
Киранкумар, Арумугам Сивакумар
(IN), Маджид Шахин (US)

(74) Представитель:
Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.,
Галухина Д.В., Алексеев В.В. (RU)

(57) Настоящее изобретение раскрывает потенциал пробиотических бактерий *Bacillus coagulans* отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом для снижения содержания глютена в пищевых продуктах, богатых глютенем, и для повышенного усвоения глютена. В изобретении дополнительно раскрыт способ лечения непереносимости глютена с применением композиции, содержащей *Bacillus coagulans* и мультиферментный комплекс, у млекопитающих.



A1

202192668

202192668

A1

СПОСОБ И КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ НЕПЕРЕНОСИМОСТИ ГЛЮТЕНА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

Эта заявка представляет собой непредварительную подачу предварительной заявки США № 62/827,955, поданной 2 апреля 2019 г.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Изобретение в целом относится к пробиотическим композициям. Более конкретно, настоящее изобретение относится к композиции, содержащей *Bacillus coagulans*, отдельно и/или в комбинации с мультиферментным комплексом, для повышения усвоения глютена и терапевтического лечения непереносимости глютена.

ОПИСАНИЕ УРОВНЯ ТЕХНИКИ

[001] Глютен представляет собой белок, который содержится в зерновых культурах, таких как пшеница, рожь и ячмень. Роль глютена в пшенице заключается в улучшении водопоглощающей способности, вязкости, эластичности теста. Существует два типа глютенных белков, а именно, глиадин, который нерастворим в воде, и глютеин, растворимый в воде. Глиадиновая фракция пшеницы традиционно считается токсичной, особенно для людей с целиакией. Целиакия представляет собой аутоиммунное заболевание кишечника, вызываемое проламинами, содержащимися в пшенице (глиадин), ржи (секалин) и ячмене (гордеин), и относится к наиболее распространенным расстройствам пищевого происхождения в западных странах. Данное заболевание имеет сильный генетический компонент (человеческий лейкоцитарный антиген DQ2 или DQ8) и характеризуется атрофией ворсинок тонкого кишечника, гиперплазией крипт и сильным иммунным ответом слизистой оболочки. Дети с непереносимостью глютена имеют множество последствий, включая отсутствие прибавки в весе у младенцев, задержку полового созревания у подростков, раздражительность, низкий рост и дефекты зубной эмали. Сообщается, что безглютеновая диета является эффективной стратегией лечения непереносимости глютена и связанных с ней состояний, таких как целиакия (Niewinski MM, *Advances in Celiac Disease and Gluten-Free Diet*, J Am Diet Assoc. 2008; 108: 661-672). Таким образом, крайне важно снизить содержание глютена в пищевых продуктах и повысить усвоение глютена, чтобы уменьшить токсические эффекты глютена.

[002] Эффективной мерой контроля диеты для людей с целиакией является исключение глютена из рациона. Несколько направлений исследований сосредоточены на разработке новых форм терапии целиакии. К ним относятся детоксикация вызывающих заболевание пептидов глютена и глиаина, а также блокирование вызванной глютеном воспалительной реакции. Добавки пищеварительных ферментов могут быть эффективной терапией для разложения глютена. В другом подходе детоксикация глютена также может выполняться во время обработки пищевых продуктов путем ферментации с использованием пробиотиков и введения пробиотиков для повышения усвоения глютена пробиотическими бактериями.

[003] В литературе уже сообщалось о применении пробиотиков для лечения непереносимости глютена.

1. Samsel A, Seneff S, Glyphosate, pathways to modern diseases II: Celiac sprue and gluten intolerance. *Interdiscip Toxicol*. 2013 6(4):159-84. doi: 10.2478/intox-2013-0026.

2. De Angelis M, Rizzello CG, Fasano A, Clemente MG, De Simone C, Silano M, De Vincenzi M, Losito I, Gobbetti M. VSL#3 probiotic preparation has the capacity to hydrolyze gliadin polypeptides responsible for Celiac Sprue. *Biochim Biophys Acta*. 1762(1):80-93. Epub 2005 Oct 21

3. Wei G, Tian N, Siezen R, Schuppan D, Helmerhorst EJ (2016) Identification of food-grade subtilisin's as gluten-degrading enzymes to treat celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 311(3): G571-G580.

[004] Также известно применение пищеварительных ферментов для лечения непереносимости глютена и повышения усвоения глютена. (Ido et. al., Combination of Gluten-Digesting Enzymes Improved Symptoms of Non-Celiac Gluten Sensitivity: A Randomized Single-blind, Placebo-controlled Crossover Study, *Clin Transl Gastroenterol*. 2018 Sep; 9(9): 181.

[005] Однако в области науки хорошо известно, что биологические эффекты пробиотиков или их продуктов являются штаммоспецифичными и не могут быть распространены на разные роды, виды и штаммы (Probiotics: In Depth/NCCIH, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health). Следовательно, существует потребность в поиске более совершенного пробиотического штамма с улучшенным потенциалом усвоения и удаления глютена. Настоящее изобретение решает указанную выше проблему, раскрывая терапевтический потенциал пробиотических бактерий *Vacillus coagulans* МТСС 5856 для лечения непереносимости глютена и повышенного удаления глютена из пищевых продуктов. Изобретение также раскрывает

синергетическую комбинацию, включающую пробиотические бактерии *Bacillus coagulans* и мультиферментный комплекс для указанного выше применения.

[006] Основной целью изобретения является раскрытие применения пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для удаления глютена из пищевых продуктов.

[007] Другой целью изобретения является раскрытие применения пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для повышения усвоения глютена у млекопитающих.

[008] Еще одной целью изобретения является раскрытие применения пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для терапевтического лечения непереносимости глютена и связанных состояний у млекопитающих.

[009] Настоящее изобретение решает указанные выше задачи и обеспечивает дополнительные связанные с этим преимущества.

ДЕПОНИРОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

[0010] Депонирование биологического материала *Bacillus coagulans* с инвентарным номером МТСС 5856, упомянутого в настоящей заявке, было осуществлено 19 сентября 2013 года в Коллекции типовых микробных культур и геном банке (МТСС), Совет по научным и промышленным исследованиям-Институт микробных технологий, сектор 39-А, Чандигарх - 160036, Индия.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0011] Настоящее изобретение раскрывает потенциал пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для снижения содержания глютена в пищевых продуктах, богатых глютенем.

[0012] Изобретение дополнительно раскрывает потенциал пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для повышенного усвоения глютена у млекопитающих.

[0013] Изобретение дополнительно раскрывает способ лечения непереносимости глютена и связанных состояний с применением композиции, содержащей *Bacillus coagulans* и мультиферментный комплекс.

[0014] Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего ниже более подробного описания изобретения, иллюстрирующего, в качестве примера, принцип изобретения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0015] На Фиг. 1 показано графическое изображение роста спор и вегетативных клеток *Bacillus coagulans* MTCC 5856 в среде, содержащей глютен.

[0016] На Фиг. 2 показано графическое изображение *Bacillus coagulans* MTCC 5856, показывающее способность снижать содержание глютена в среде.

[0017] На Фиг. 3 показано графическое изображение снижения содержания глиаина в пшеничной муке (WF) под действием *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

[0018] На Фиг. 4 показано графическое изображение снижения содержания глиаина в пшеничном глютене под действием *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

[0019] На Фиг. 5 показано графическое изображение снижения содержания глиаина в пшеничном глютене под действием *Bacillus coagulans* MTCC 5856 и МЕС (мультиферментный комплекс).

[0020] На Фиг. 6 показано графическое изображение снижения содержания глиаина в пшеничной муке под действием *Bacillus coagulans* MTCC 5856 и МЕС (мультиферментный комплекс).

ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

[0021] В наиболее предпочтительном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу снижения содержания глютена в пищевых продуктах, включающему стадию приведения пищевых продуктов, содержащих глютен, в контакт с пробиотическими бактериями *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для достижения эффекта снижения содержания глютена. В связанном варианте осуществления тип глютена выбран из группы, включающей глиадин, гордеины, авенины и секалины. В другом связанном варианте осуществления пищевые продукты, содержащие настоящий глютен, представляют собой ячмень, пшеницу, рожь и овес. В другом связанном варианте осуществления пищевые продукты, содержащие глютен, выбраны, но не ограничиваются ими, из глютенов в муке из ячменя, пшеницы, ржи и овса. В другом связанном варианте осуществления продукты, содержащие глютен, выбраны, но не ограничиваясь ими, из пшеничной муки, муки общего назначения, миндальной муки, рисовой муки, кукурузной муки, муки грубого помола, манной крупы, муки из полбяной пшеницы. В другом связанном варианте осуществления глютен из пшеницы выбран из различных видов пшеницы, в основном из пшеницы *Farro medio* или *Emmer*, пшеницы *Farro piccolo* или *Einkorn*, пшеницы *Farro grande* или спельты, тритикале, твердой пшеницы, хорасана, камута. В связанном варианте

осуществления штамм *Bacillus coagulans*, в частности, представляет собой МТСС 5856. В еще одном связанном варианте осуществления эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 колониеобразующих единиц (КОЕ). В еще одном связанном варианте осуществления мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU/г (DU - единица декстринизации), б) целлюлазу: не менее 1100 CU/г (CU - единица целлюлазы), в) липазу: не менее 200 FIP/г (FIP - единица Международной Фармацевтической Федерации), г) лактазу: не менее 4000 ALU/г (ALU - единица кислой лактазы) и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г (PC - единица протеазы).

[0022] В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретение относится к способу повышения усвоения глютена у млекопитающих, включающему стадию введения пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно и/или в комбинации с мультиферментным комплексом, указанным млекопитающим для достижения эффекта повышенного усвоения глютена. В связанном варианте осуществления штамм *Bacillus coagulans*, в частности, представляет собой МТСС 5856. В еще одном связанном варианте осуществления эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 КОЕ. В еще одном связанном варианте осуществления мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU /г, б) целлюлазу: не менее 1100 CU /г, в) липазу: не менее 200 FIP/г, г) лактазу: не менее 4000 ALU/г и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г. В другом связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

[0023] В еще одном наиболее предпочтительном варианте осуществления, изобретение относится к способу терапевтического лечения непереносимости глютена и связанных состояний у млекопитающих путем повышения усвоения глютена, включающему стадию введения композиции, содержащей пробиотические бактерии *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, млекопитающим, нуждающимся в такой терапии, для снижения симптомов непереносимости глютена. В связанном варианте осуществления штамм *Bacillus coagulans*, в частности, представляет собой МТСС 5856. В еще одном связанном варианте осуществления эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 КОЕ. В еще одном связанном варианте осуществления мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU /г, б) целлюлазу: не менее 1100 CU/г, в) липазу: не менее 200 FIP/г, г) лактазу: не менее 4000 ALU/г и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г. В еще одном связанном варианте осуществления симптомы непереносимости глютена выбраны из группы, включающей, но не ограничиваясь этим, хроническую диарею,

вздутие живота, спазмы и боли в желудке, боль в суставах, язвы во рту, пропущенные менструальные периоды, головную боль, анемию, усталость, депрессию и тревожность, тошноту и рвоту, заложенность носа, затрудненное дыхание или анафилаксию, раздражение глаз, крапивницу и сыпь, вздутие живота и газы, запор, бледный стул с неприятным запахом. В другом связанном варианте осуществления связанные с непереносимостью глютена состояния выбраны из группы, состоящей из аутоиммунных заболеваний, таких как целиакия, герпетический дерматит, глютеновая атаксия, непереносимость глютена без целиакии (NCGS), употребление глютена, нарушение всасывания глютена. В другом связанном варианте осуществления композицию, содержащую *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, составляют с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами, адъювантами, основами, разбавителями, носителями, средствами для сохранения свежести, усилителями биодоступности, антиоксидантами и консервантами и вводят перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных таблеток, леденцов или пищевых продуктов.

[0024] Конкретные примеры, приведенные ниже, иллюстрируют указанные выше наиболее предпочтительные варианты осуществления настоящего изобретения.

[0025] Пример 1: Усвоение глютена (GL) *Bacillus coagulans* MTCC 5856 в среде

[0026] Методология

[0027] *B. coagulans* MTCC 5856 выращивали в среде (состав: 5 г/л пептического перевара животных тканей, 5 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л декстрозы, 0,5 г/л дикалийфосфата, 0,5 г/л монокалийфосфата, 0,3 г/л сульфата магния и 0,3 г/л хлорида натрия, 0,1 г/л сульфата марганца pH 6,5). После 48 ч инкубации посевной материал объемом 250 мл дважды промывали физиологическим раствором, в конечный осадок добавляли 10 мл физиологического раствора и переносили в свежую стерильную среду.

[0028] Через 24 ч инкубации посевной материал переносили в свежую стерильную среду (состав: от 2,5 до 10 г/л глютена из пшеницы (sigma-Aldrich), 2,5 г/л декстрозы, 1,0 г/л дикалийфосфата, 1,0 г/л монокалийфосфата, 0,5 г/л сульфата магния и 2 г/л хлорида натрия, pH 6,5) и инкубировали при 37 °C в течение 72 ч при 180 об/мин. Через каждые 24, 48 и 72 ч инкубации ферментированный бульон собирали и лиофилизировали (VirTis 2 K Freeze Dryer, СП Индастриз, Инк., Уорминстер, Пенсильвания, США). Далее собирали порошок и проводили анализ содержания глиаина с использованием набора Veratox® для Глиаина R5. Анализы выполняли в соответствии с инструкциями производителей, как описано.

[0029] Veratox для Глиаина R5 представляет собой "сэндвич-метод" иммуноферментного анализа (S-ELISA). Глиадин экстрагировали из образцов 60%-м раствором этанола встряхиванием в шейкере. В лунки для переноса добавляли 150 мкл контрольного образца и экстрагированные образцы. Затем переносили 100 мкл в лунки с антителами, инкубировали в течение 10 минут и перемешивали в течение 20 секунд, двигая вперед и назад по плоской поверхности, и сливали жидкость из лунок с антителами. Переносили 100 мкл конъюгата из лодочки для реагентов в лунки с антителами с помощью 12-канального пипеточного дозатора, перемешивали в течение 20 секунд, двигая вперед и назад по плоской поверхности, и инкубировали в течение 10 минут. После инкубации в раствор добавляли 100 мкл субстрата из лодочки для реагентов в лунки с антителами с помощью 12-канального пипеточного дозатора и инкубировали в течение 10 минут. Хорошо перемешивали в течение 20 секунд, двигая вперед и назад по плоской поверхности. Затем переносили 100 мкл красного стоп-реагента из лодочки с реагентами в лунки с антителами, хорошо перемешивали и считывали результаты на микролуночном считывателе. Появление синего цвета указывает на то, что образцы содержат высокий уровень глиаина, в то время как образцы фиолетового или красного цвета содержат мало или совсем не содержат глиаина. Оптические плотности контрольных образцов образуют стандартную кривую, и оптические плотности образцов наносятся на кривую для расчета точной концентрации глиаина в частях на миллион (млн^{-1}).

[0030] Результаты

[0031] Данные исследования показали, что *Bacillus coagulans* МТСС 5856 обладает способностью расти при ферментации пшеничного глютена в качестве источника питания (Фиг. 1).

[0032] Что касается способности *Bacillus coagulans* снижать содержание глиаина, как споры, так и вегетативные клетки *Bacillus coagulans* МТСС 5856 значительно снижали содержание глиаина в среде (Фиг. 2).

[0033] Пример 2: Усвоение глютена *Bacillus coagulans* МТСС 5856 в пшеничной муке (WF)

[0034] Методология

[0035] *B. coagulans* МТСС 5856 выращивали в среде (состав: 5 г/л пептического перевара животных тканей, 5 г/л дрожжевого экстракта, 2 г/л декстрозы, 0,5 г/л дикалийфосфата, 0,5 г/л монокалий фосфата, 0,3 г/л сульфата магния и 0,3 г/л хлорида натрия, 0,1 г/л сульфата марганца рН 6,5). После 48 ч инкубации посевной материал

объемом 250 мл дважды промывали физиологическим раствором, в конечный осадок добавляли 10 мл физиологического раствора и переносили в свежую стерильную среду.

[0036] После 24 часов инкубации посевной материал переносили в свежую стерильную среду (состав: от 2,5 до 10 г/л пшеничной муки в 1000 мл калий-фосфатного буфера (0,1 М, рН 6,5) и инкубировали при 37 °С в течение 72 часов при 180 об/мин. Через каждые 24, 48 и 72 ч инкубации ферментированный бульон собирали и лиофилизировали. Далее собирали порошок и проводили анализ содержания глиадина с использованием набора Veratox® для Глиадина R5 в соответствии с процедурой, описанной в примере 1.

[0037] Результаты

[0038] Споры и вегетативные клетки *Bacillus coagulans* МТСС 5856 инкубировали с цельнозерновой мукой. И споры, и вегетативные клетки *Bacillus coagulans* МТСС 5856 значительно снижали содержание глиадина в пшеничной муке. (Фиг. 3)

[0039] Кроме того, способность *Bacillus coagulans* МТСС 5856 снижать содержание глиадина в пшенице сравнивали с другими штаммами *Bacillus coagulans* (*Bacillus coagulans* АТСС 31284). *Bacillus coagulans* МТСС 5856 был намного более эффективным в снижении содержания глиадина в пшенице по сравнению с *Bacillus coagulans* АТСС 31284 (Таблица 1).

[0040] Таблица 1: Сравнение снижения содержания глиадина (млн⁻¹) в пшеничной муке (WF) под действием *B.coagulans* МТСС 5856 и *B.coagulans* АТСС 31284

Содержание глиадина в пшеничной муке Без обработки (млн ⁻¹)	Содержание глиадина в пшеничной муке с <i>B.coagulans</i> МТСС 5856 (млн ⁻¹)	Содержание глиадина в пшеничной муке с <i>B.coagulans</i> АТСС 31284 (млн ⁻¹)
929	29,84	Н/Д
2457	19,58	1102
4685	11,57	2315

Н/Д - нет данных

[0041] Аналогично, *B.coagulans* МТСС 5856 был намного эффективнее в снижении содержания глиадина в пшеничном глютене (Фиг. 4 и таблица 2) по сравнению с *B.coagulans* АТСС 31284.

[0042] Таблица 2: Сравнение снижения содержания глиадина (млн⁻¹) в пшеничном глютене (WG) под действием *B.coagulans* МТСС 5856 и *B.coagulans* АТСС 31284

Глютен без обработки (млн ⁻¹)	Глютен с <i>B.coagulans</i> MTCC 5856 (млн ⁻¹)	Глютен с <i>B.coagulans</i> ATCC 31284 (млн ⁻¹)
586	12,45	Н/Д
1914	35,24	906
3681	78,6	1912

Н/Д - нет данных

[0043] Пример 3: Комбинированное исследование *Bacillus coagulans* MTCC 5856 и мультиферментного комплекса в отношении усвоения глютена (GL) в среде и в пшеничной муке (WT)

[0044] *B. coagulans* MTCC 5856 выращивали в среде (состав: 10 г/л глютена из пшеницы (sigma-Aldrich), 2,5 г/л декстрозы, 1,0 г/л дикалийфосфата, 1,0 г/л монокалийфосфата, 0,5 г/л сульфата магния и 2 г/л хлорида натрия, pH 6,5) и добавляли различные концентрации мультиферментного комплекса (150 мг/л) после стерилизации среды вместе с *B. coagulans* MTCC 5856 и инкубировали при 37 °C в течение 72 часов. После 72 ч инкубации ферментированный бульон собирали и лиофилизировали (VirTis 2 K Freeze Dryer, SP Industries, Inc., Уорминстер, Пенсильвания, США). Далее порошок собирали и проводили анализ содержания глиадина. В этом эксперименте также была взята одна группа без мультиферментного комплекса. Содержание мультиферментного комплекса раскрыто в таблице 3.

[0045] Таблица 3: Состав мультиферментного комплекса (MEC)

Сер. №	Фермент	Активность (ед/г)
1	α-амилаза	24000 DU
2	Нейтральная протеаза	6000 PU
3	Целлюлаза	1100 CU
4	Лактаза	4000 ALU
5	Липаза	200 FIP

DU - единица декстринизации; PU - единица протеазы; CU - единица целлюлазы; ALU - единица кислой лактазы; FIP - единица Международной фармацевтической федерации

[0046] Другой эксперимент проводили с использованием среды с составом: 10 г/л пшеничной муки в 1000 мл калий-фосфатного буфера (0,1 M, pH 6,5) и инкубации при 37

°C в течение 72 часов при 180 об/мин. Через каждые 24, 48 и 72 ч инкубации ферментированный бульон собирали и лиофилизировали. Далее порошок собирали и проводили анализ содержания глиадина, и после стерилизации среды добавляли мультиферментный комплекс (150 мг/л) вместе с *B. coagulans* MTCC 5856 и инкубировали при 37 °C в течение 72 часов. После 72 ч инкубации ферментированный бульон собирали и лиофилизировали. Далее порошок собирали и проводили анализ содержания глиадина. В этом эксперименте также была взята одна группа без мультиферментного комплекса.

[0047] Результаты

[0048] Результаты приведены в таблице 4.

[0049] Таблица 4: Снижение содержания глиадина в пшеничной муке и пшеничном глютене под действием *B. coagulans* MTCC 5856 и МЕС (мультиферментный комплекс)

Состав	Содержание глиадина (млн ⁻¹)
Пшеничный глютен 10 г/л (необработанный контрольный образец)	3678
Пшеничный глютен 10 г/л + МЕС 150 мг	860
Пшеничный глютен 10 г/л + МЕС 150 мг + <i>B.coagulans</i> 5856	3,78
Пшеничная мука 10 г/л (необработанный контрольный образец)	4671
Пшеничная мука 10 г/л + МЕС 150 мг	855
Пшеничный глютен 10 г/л + МЕС 150 мг + <i>B.coagulans</i> 5856	4,04

[0050] Комбинация *B.coagulans* и мультиферментного комплекса демонстрирует синергетический эффект в отношении снижения содержания глиадина как в цельнозерновой пшенице, так и в пшеничной муке по сравнению с мультиферментным комплексом отдельно, как показано в Таблице 4, а также на Фиг. 5 и Фиг. 6.

[0051] Пример 4: Составы, содержащие *Bacillus coagulans* и мультиферментный комплекс, при непереносимости лактозы

[0052] *Bacillus coagulans* и мультиферментный комплекс составлен с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми композициями с эксципиентами, адьювантами, основами, разбавителями, носителями, средствами для сохранения свежести, усилителями биодоступности, антиоксидантами и консервантами и/или в

комбинации с другими гепатозащитными композициями и вводится перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных таблеток, леденцов или пищевых продуктов, и вводится для лечения непереносимости глютена. В следующих таблицах представлены примеры различных композиций *Bacillus coagulans* и мультиферментных комплексов.

[0053] В таблицах 5-10 представлены иллюстративные примеры составов, содержащих *Bacillus coagulans* MTCC 5856 (LACTOSORE®), для лечения/контроля непереносимости глютена.

[0054] Таблица 5: Таблетка *Bacillus coagulans*

Активные ингредиенты
<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)
Вспомогательные вещества
Микроцсталиновая целлюлоза, коллоидный диоксид кремния, стеарат магния

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0055] Таблица 6: Капсула *Bacillus coagulans*

Активные ингредиенты
<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)
Вспомогательные вещества
Мальтодекстрин

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0056] Таблица 7: Смесь для напитков *Bacillus coagulans*

Активные ингредиенты
<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)
Вспомогательные вещества
Мальтодекстрин, таурин, лимонная кислота, сукралоза, ароматизатор, витамины B6 и B12

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0057] Таблица 8: Таблетка *Bacillus coagulans*+мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Активные ингредиенты
<i>Bacillus coagulans</i> MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)

Мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Вспомогательные вещества

Микроцсталиновая целлюлоза, коллоидный диоксид кремния, стеарат магния

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0058] Таблица 9: смесь для напитков Bacillus coagulans+мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Активные ингредиенты

Bacillus coagulans MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)

Мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Вспомогательные вещества

Мальтодекстрин, таурин, лимонная кислота, сукралоза, ароматизатор, витамины B6 и B12

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0059] Таблица 10: Капсула Bacillus coagulans+мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Активные ингредиенты

Bacillus coagulans MTCC 5856; 2 млрд КОЕ (LACTOSORE®)

Мультиферментный комплекс (DigeZyme®)

Вспомогательные вещества

Мальтодекстрин

*®-зарегистрированный товарный знак Sabinsa Corporation, США.

[0060] Вышеуказанные составы являются просто иллюстративными примерами; любой состав, содержащий вышеуказанный активный ингредиент, предназначенный для указанной цели, будет считаться эквивалентным.

[0061] Другие модификации и вариации изобретения будут очевидны специалистам в данной области из приведенного выше описания и идей. Таким образом, хотя здесь были конкретно описаны только определенные варианты осуществления изобретения, очевидно, что в них могут быть внесены многочисленные модификации без отклонения от сущности и объема изобретения. Объем изобретения следует интерпретировать только в сочетании с прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ снижения содержания глютена в пищевых продуктах, включающий стадию приведения пищевых продуктов, содержащих глютен, в контакт с пробиотическими бактериями *Bacillus coagulans*, отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, для достижения эффекта снижения содержания глютена.

2. Способ по п. 1, где тип глютена выбран из группы, состоящей из глиадина, гордеинов, авенинов и секалинов.

3. Способ по п. 1, где пищевые продукты, содержащие глютен, выбраны из группы, состоящей из ячменя, пшеницы, ржи и овса.

4. Способ по п. 1, где штамм *Bacillus coagulans* представляет собой *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

5. Способ по п. 1, где эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 колониеобразующих единиц (КОЕ).

6. Способ по п. 1, где мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU/г (DU - единица декстринизации), б) целлюлазу: не менее 1100 CU/г (CU - единица целлюлазы), в) липазу: не менее 200 FIP/г (FIP - единица Международной Фармацевтической Федерации), г) лактазу: не менее 4000 ALU/г (ALU - единица кислой лактазы) и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г (PC - единица протеазы).

7. Способ повышения усвоения глютена у млекопитающих, включающий стадию введения пробиотических бактерий *Bacillus coagulans*, отдельно и/или в комбинации с мультиферментным комплексом, указанным млекопитающим для достижения эффекта повышенного усвоения глютена.

8. Способ по п. 7, где штамм *Bacillus coagulans* представляет собой *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

9. Способ по п. 7, где эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 КОЕ.

10. Способ по п. 7, где мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU/г, б) целлюлазу: не менее 1100 CU/г, в) липазу: не менее 200 FIP/г, г) лактазу: не менее 4000 ALU/г и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г.

11. Способ по п. 7, где млекопитающее представляет собой человека.

12. Способ терапевтического лечения непереносимости глютена и связанных состояний у млекопитающих путем увеличения усвоения глютена, включающий стадию введения композиции, содержащей пробиотические бактерии *Bacillus coagulans* отдельно

или в комбинации с мультиферментным комплексом, млекопитающим, нуждающимся в такой терапии, для снижения симптомов непереносимости глютена.

13. Способ по п. 12, где штамм *Bacillus coagulans* представляет собой *Bacillus coagulans* MTCC 5856.

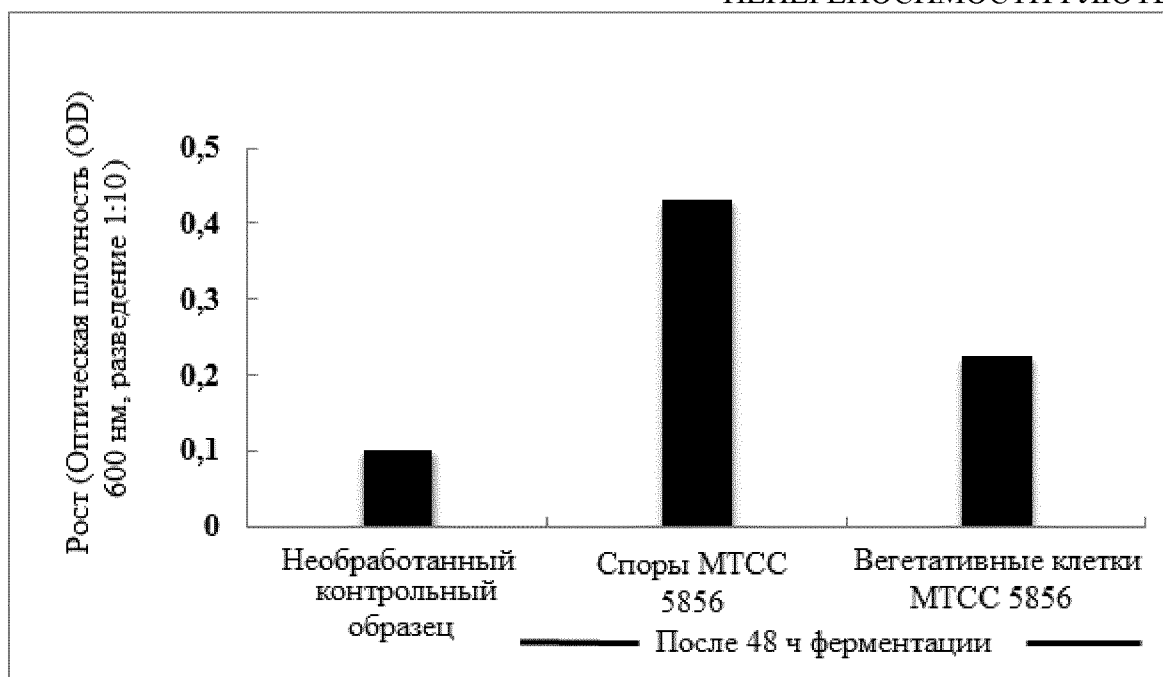
14. Способ по п. 12, где эффективная доза *Bacillus coagulans* составляет 2×10^9 КОЕ.

15. Способ по п. 12, где мультиферментный комплекс содержит а) α -амилазу: не менее 24000 DU/г, б) целлюлазу: не менее 1100 CU/г, в) липазу: не менее 200 FIP/г, г) лактазу: не менее 4000 ALU/г и д) нейтральную или кислую протеазу: не менее 6000 PC/г.

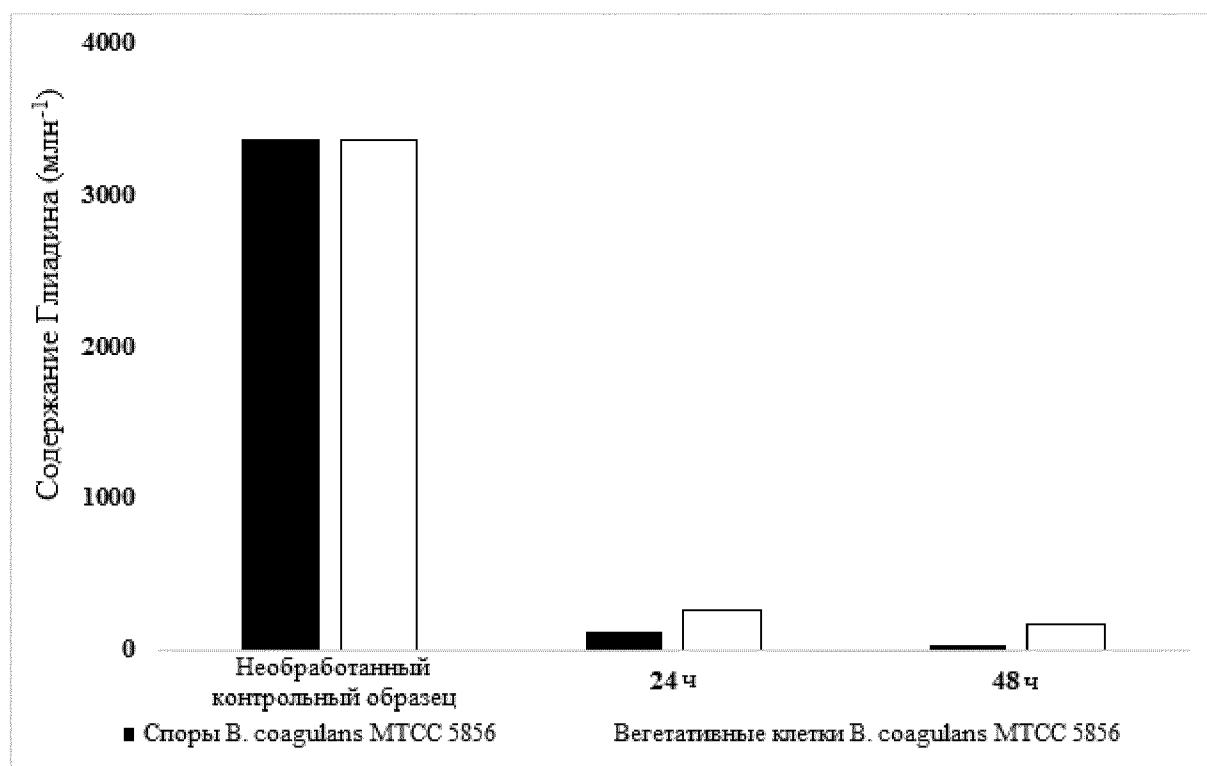
16. Способ по п. 12, где связанные с непереносимостью глютена состояния выбраны из группы, состоящей из аутоиммунных заболеваний, таких как целиакия, герпетиформный дерматит, глютеносенситивная энтеропатия, непереносимость глютена без целиакии (NCGS), употребление глютена, нарушение всасывания глютена.

17. Способ по п. 12, где млекопитающее представляет собой человека.

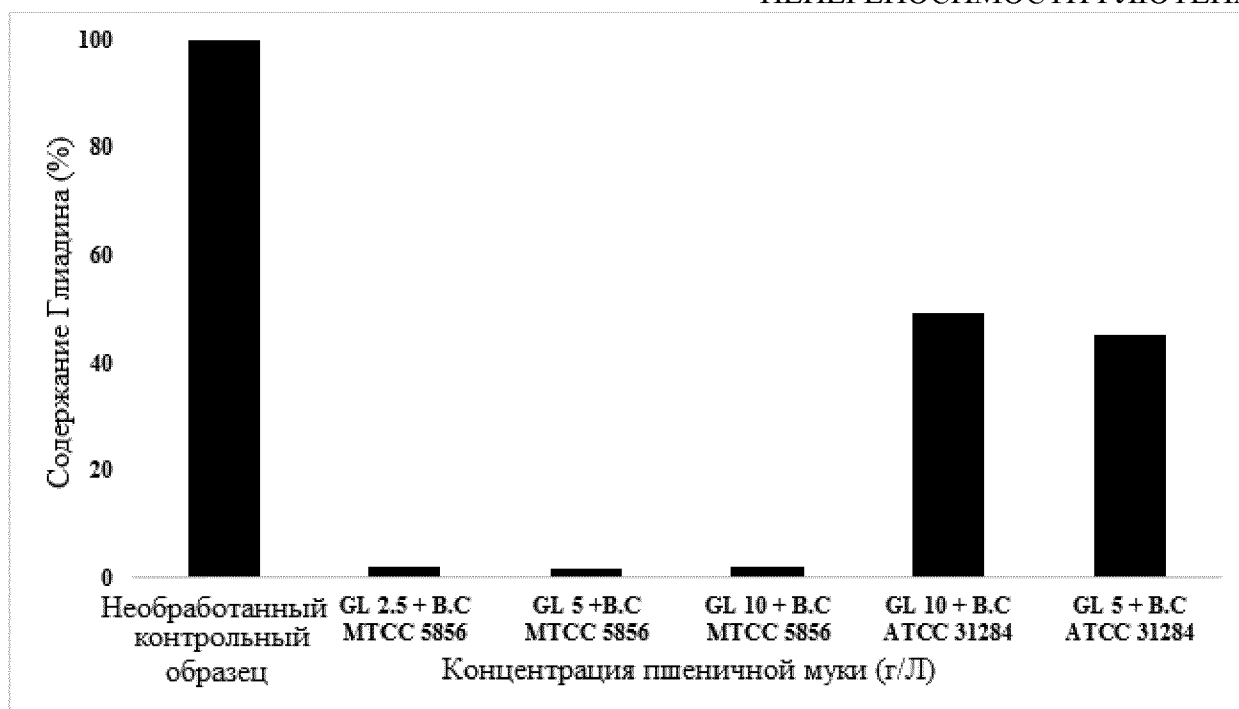
18. Способ по п. 12, где композицию, содержащую *Bacillus coagulans* отдельно или в комбинации с мультиферментным комплексом, составляют с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами, адъювантами, основами, разбавителями, носителями, средствами для сохранения свежести, усилителями биодоступности, антиоксидантами и консервантами и вводят перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных таблеток, леденцов или пищевых продуктов.



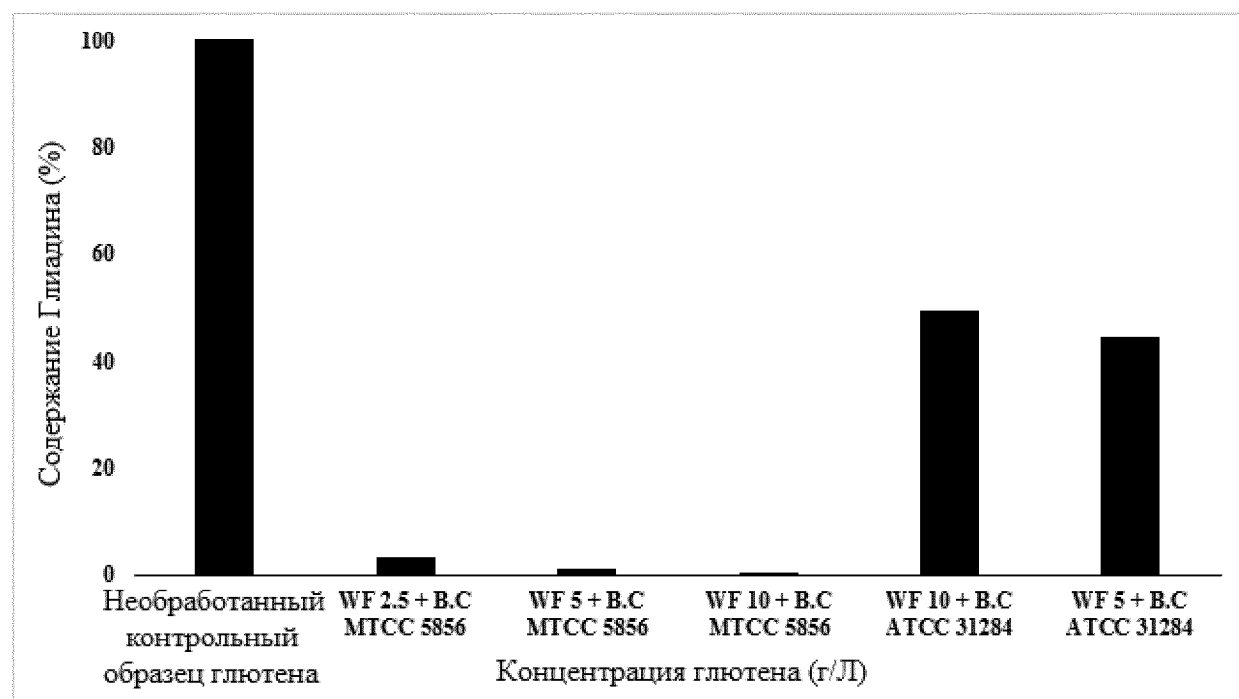
Фиг. 1



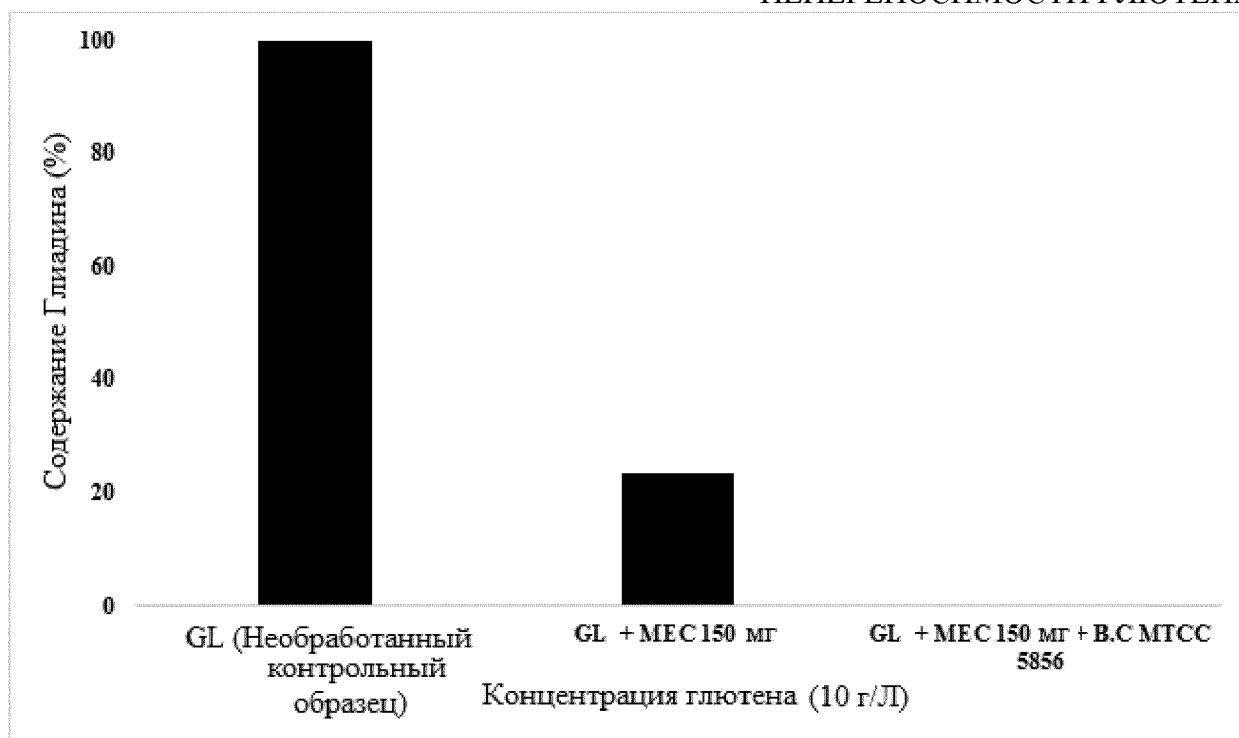
Фиг. 2



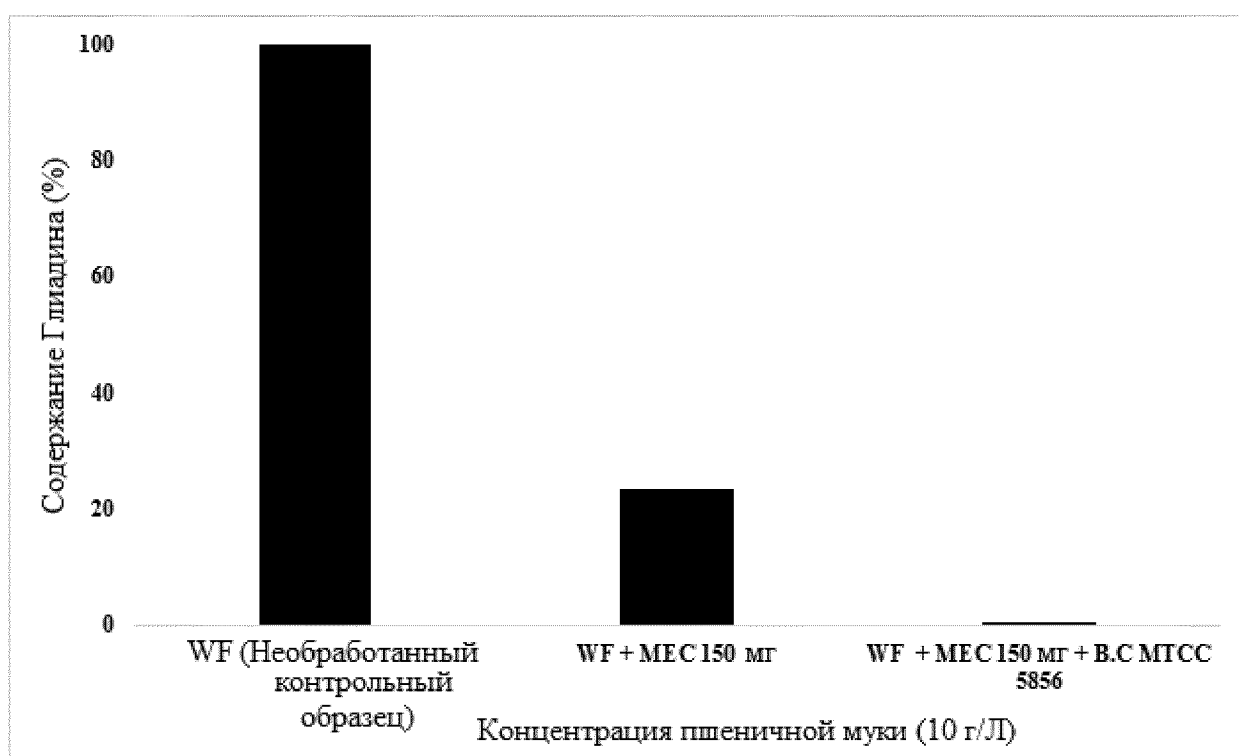
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6