

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 369 789**

51 Int. Cl.:

C07H 3/06 (2006.01)

A61K 31/702 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61P 37/08 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06732082 .0**

96 Fecha de presentación: **19.04.2006**

97 Número de publicación de la solicitud: **1878738**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.01.2008**

54 Título: **1-KESTOSA PARA TRATAR ALERGIAS Y DERMATITIS ATÓPICA.**

30 Prioridad:
21.04.2005 JP 2005123723
22.12.2005 JP 2005371005

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.12.2011

73 Titular/es:
**THE HOKUREN FEDERATION OF
AGRICULTURAL COOPERATIVES
3, NISHI 1-CHOME KITA 4-JYOU CHUO-KU
SAPPORO-SHI HOKKAIDO, 0608651, JP y
B FOOD SCIENCE CO., LTD.**

72 Inventor/es:
**KOGA, Yasuhiro;
SHIBATA, Rumiko;
AIBA, Yuji;
FUKUMORI, Yasunori y
TAKEDA, Hiroyuki**

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

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).

ES 2 369 789 T3

DESCRIPCIÓN

1-kestosa para tratar alergias y dermatitis atópica.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

1. Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere en general a una composición eficaz para la inhibición de enfermedades alérgicas, y particularmente a una composición supresora de alergias, a un alimento supresor de alergias y a un agente supresor de alergias que comprenden 1-kestosa como ingrediente activo de acuerdo con las reivindicaciones, adecuado para la prevención del desarrollo y tratamiento de enfermedades alérgicas, ya que la 1-kestosa posee el efecto de aumentar la producción de una inmunoglobulina A (IgA), inhibiendo la producción de inmunoglobulina E (IgE) y activando el crecimiento de *Bifidobacterium* intestinal.

2. Descripción de la técnica relacionada

Las enfermedades alérgicas ocurren cuando el sistema inmunitario exhibe un malfuncionamiento como autoprotección contra enemigos tales como sustancias extrañas. Las enfermedades alérgicas, como la alergia a los alimentos, polinosis y dermatitis atópica, se ven en pacientes de distintas edades y sus regiones, y los síntomas varían.

- 15 Las enfermedades alérgicas normalmente se hallan en la forma de marcha alérgica en la que muchos síntomas cambian con la edad. Específicamente, los pacientes con disposición atópica presentan dermatitis atópica en el primer año de vida, sufren posteriormente asma bronquial en la primera infancia y rinitis alérgica cuando llegan a la adultez. Estos síntomas de marcha alérgica sucesivos se han convertido en un gran problema social, que requiere la toma de medidas eficaces e inmediatas. De hecho, el tratamiento adecuado de la dermatitis atópica en una etapa temprana, tal como el primer año de vida, puede prevenir el desarrollo posterior de enfermedades alérgicas.

Las enfermedades alérgicas, que se atribuyen principalmente a un anticuerpo IgE, pueden prevenirse inhibiendo su producción.

- 25 Además, se sabe que el anticuerpo IgA se halla en el tubo digestivo humano y que particularmente una IgA secretora estimula el sistema inmunitario. El sistema inmunitario encuentra los alimentos consumidos esencialmente extraños y tolera principalmente las proteínas extrañas absorbidas en el tubo digestivo. Esta tolerancia inmunitaria intestinal puede lograrse principalmente con el anticuerpo IgA. Por lo tanto, la activación de dicha IgA podría ser una medida preventiva de alergia adicional.

- 30 Además, la aparición de enfermedades alérgicas se asocia a la composición de la flora enterobacteriana antes de que se presente el problema, y se describe que en niños pequeños con síntomas alérgicos, el recuento de bifidobacterias de flora enterobacteriana en lactantes es inferior que en niños pequeños sanos. En vista de esta observación, parece un medio eficiente para mejorar la composición de la flora enterobacteriana prevenir las enfermedades alérgicas.

Mientras tanto, el uso de fármacos antialérgicos para tratar directamente la región afectada o prevenir la unión de materia extraña con IgE requiere la prescripción del médico. Además, es difícil determinar si continuar o discontinuar la toma, y se han reportado muchos casos de efectos colaterales.

- 35 También se indica que muchos alimentos poseen un efecto inhibitor de síntomas alérgicos, pero existen varias desventajas, como los efectos indefinidos de los componentes extraídos de vegetales, que requieren un cauteloso control bacteriológico, y muchos tipos de alimentos tienen mala calidad de sabor.

- 40 La mayoría de los pacientes que padecen dermatitis atópica, principalmente bebés y niños pequeños sensibles a la seguridad de los alimentos, deben consumir alimentos completamente seguros y alimentos altamente procesados que puedan ingerirse fácilmente.

Se han propuesto invenciones convencionales que se refieren a sustancias que tienen funciones supresoras de alergia, como un material preventivo de alergia que contiene fructooligosacárido, como se describe en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 08-157379 y un alimento inmunoestimulante que contiene fructooligosacárido, como se describe en otra publicación de patente japonesa no examinada núm. 2003-201239.

- 45 A. Hosono et al. describen en Biosci. Biotechnol. Biochem. 67 (4), 758-764 (2003) el uso de una mezcla de fructooligosacárido (FOS) de 42% 1-kestosa, 46% nistosa y 9% IF- β -fructofuranosilnistosa para incrementar la producción de IgA.

SUMARIO DE LA INVENCION

- 50 No obstante, la invención anteriormente mencionada en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 08-157379 se centra en un método que promueve la absorción de magnesio, sin describir un efecto sobre el sistema

- 5 inmunitario. Otra invención convencional bajo el núm. 2003-201239 muestra una descripción de un efecto inmunoestimulante con una mezcla de diversos oligosacáridos, pero no implica la identificación de un factor en el compuesto, particularmente no hay una descripción de un efecto de kestosa. De acuerdo con los experimentos realizados por los inventores, usando un oligosacárido con una baja pureza de 1-kestosa, no se logró la inhibición de la producción de un anticuerpo IgE, y en consecuencia viraron su foco hacia un efecto de inhibir la alergia mediante 1-kestosa.
- Además, los inventores hallaron un efecto de mejoramiento de la composición de la flora enterobacteriana, proliferando *Bifidobacterium* (conocida como bacteria intestinal útil) mediante oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal, y se centraron en el efecto supresor de alergia resultante para la dermatitis atópica, etc.
- 10 La kestosa es un oligosacárido compuesto por tres monosacáridos, una sustancia contenida en vegetales y granos sin efectos colaterales en la experiencia de una dieta abundante. La 1-kestosa cristalizada tiene baja higroscopicidad y su calidad de sabor y solubilidad son equivalentes al azúcar. Por lo tanto, este material es adecuado para que puedan ingerirlo bebés y niños pequeños a diario.
- 15 Para resolver los problemas anteriormente mencionados, la presente invención, por lo tanto, provee una composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1. Las realizaciones preferidas de la invención se proveen en las reivindicaciones 2 a 8. La presente invención provee específicamente una composición supresora de alergia, un alimento supresor de alergia y un agente supresor de alergia, usando un oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal, donde la cantidad de 1-kestosa es mayor que aquella de nistosa, confirmando que la 1-kestosa posee el efecto de aumentar la producción de un anticuerpo IgA, el efecto de inhibir la producción de un anticuerpo IgE, el efecto de activar el crecimiento de *Bifidobacterium* intestinal y el efecto de aliviar la dermatitis atópica en bebés y niños pequeños en ensayos en seres humanos.
- 20 La composición supresora de alergia de acuerdo con la presente invención comprende un oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal, donde la cantidad de 1-kestosa es mayor que aquella de la nistosa.
- 25 La composición supresora de alergia de acuerdo con la presente invención comprende 1-kestosa como ingrediente activo y posee el efecto de aumentar la producción de un anticuerpo IgA.
- La composición supresora de alergia de acuerdo con la presente invención comprende 1-kestosa como ingrediente activo y tiene el efecto de inhibir la producción de un anticuerpo IgE.
- La composición supresora de alergia de acuerdo con la presente invención comprende 1-kestosa como ingrediente activo y tiene el efecto de activar el crecimiento de *Bifidobacterium* intestinal en bebés y niños pequeños.
- 30 La composición supresora de alergia de acuerdo con la presente invención comprende 1-kestosa como ingrediente activo y tiene el efecto de aliviar la dermatitis atópica en bebés y niños pequeños.
- En la presente invención, la cantidad de 1-kestosa contenida es mayor que aquella de la nistosa.
- Preferiblemente en la presente invención, 1-kestosa es una kestosa cristalizada con una pureza de 95 % o más.
- A su vez, en esta invención, se desea que una cantidad diaria (dosis) eficaz sea 0,015 (g/kg-peso corporal) o más.
- 35 A su vez, el alimento supresor de alergia de acuerdo con la presente invención comprende la composición supresora de alergia anteriormente mencionada.
- El agente supresor de alergia de acuerdo con la presente invención comprende la composición supresora de alergia anteriormente mencionada.
- 40 De acuerdo con la presente invención, 1-kestosa puede proveer el efecto de inhibir la producción de un anticuerpo IgE (IgG1) de etiología alérgica, el efecto de aumentar la producción de un anticuerpo IgA que conduce a tolerancia inmunitaria intestinal y el efecto de prevenir y tratar enfermedades alérgicas. Asimismo, puede mejorar la composición de la flora enterobacteriana, prevenir y tratar dermatitis atópica en bebés y niños pequeños, y prevenir el desarrollo de enfermedades alérgicas subsiguientes.
- BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**
- 45 Los objetos anteriormente mencionados y otros objetos de la invención se observarán con referencia a la descripción tomada en relación con los dibujos adjuntos, en los que:
- La Figura 1 es una tabla que muestra los resultados de la concentración de IgA en las heces, medida antes y después de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 1;
- la Figura 2 es un gráfico de los resultados de la Figura 1 en el Ejemplo 1;

- la Figura 3 es una tabla que muestra el recuento bacteriano intestinal antes de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 1;
- la Figura 4 es una tabla que muestra el recuento bacteriano intestinal después de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 1;
- 5 la Figura 5 es un gráfico que muestra el cambio en el recuento de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo antes y después de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 1;
- la Figura 6 es un gráfico que muestra el cambio en presencia de *Bifidobacterias* intestinales mediante la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 1;
- la Figura 7 es un gráfico que muestra un efecto de inducir la tolerancia inmunitaria oral en base al cambio en la cantidad de IgG1, por administración oral de 1-kestosa en el Ejemplo 2;
- 10 la Figura 8 es una tabla que muestra un efecto de inducir la tolerancia inmunitaria oral en base a la cantidad de IgE, por administración oral de 1-kestosa en el Ejemplo 2;
- la Figura 9 es una tabla que muestra los resultados de una cantidad de IgE en suero humano antes y después de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 3;
- la Figura 10 es una tabla que muestra la composición de sacárido utilizada en un experimento en el Ejemplo 4;
- 15 la Figura 11 es un gráfico que muestra la comparación del efecto de mejorar la flora enterobacteriana mediante cada sustancia que comprende fructooligosacárido en el Ejemplo 4;
- la Figura 12 es una tabla que muestra la comparación del efecto de inhibir IgE con 1-kestosa y fructooligosacárido en el Ejemplo 5;
- 20 la Figura 13 es una tabla que muestra los resultados experimentales para determinar la cantidad eficaz de 1-kestosa en el Ejemplo 6;
- la Figura 14 es un gráfico que muestra el recuento de bifidobacterias en relación con la cantidad eficaz de 1-kestosa en el Ejemplo 6; y
- la Figura 15 es una tabla que muestra los hallazgos clínicos, la presencia de bifidobacterias y los efectos colaterales antes y después de la ingesta de 1-kestosa en el Ejemplo 7.
- 25 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA REALIZACIÓN PREFERIDA
- Los inventores de la presente invención hallaron una función del oligosacárido que contiene 1-kestosa con una gran pureza en la proliferación de *Bifidobacterium*, incluso en un entorno intestinal en el que las bacterias perjudiciales tales como las bacterias de *Clostridium* son más predominantes que *Bifidobacterium* en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 2004-126086. En esta invención, no obstante, sus otras investigaciones sobre la disponibilidad de 1-kestosa condujeron a un efecto supresor de alergia en una composición que contiene 1-kestosa con una alta pureza.
- 30 Una 1-kestosa utilizada en esta realización es un trisacárido, un oligosacárido compuesto por glucosa monomolecular y fructosa bimolecular. Un oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal puede producirse haciendo reaccionar un ingrediente de sacarosa con diversas enzimas para obtener una composición que contiene 1-kestosa, como se describe en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 58-201980, aumentando la pureza de 1-kestosa por separación cromatográfica, como se describe en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 2000-232878, y cristalizando 1-kestosa con una pureza de 95% o más, como se describe en la publicación de patente japonesa no examinada núm. 06-070075. Un oligosacárido cristalizado, que tiene 1-kestosa como ingrediente principal producido por métodos convencionales, es una sustancia indigerible de excelente solubilidad y baja energía, con efectos de aumentar la producción de IgA e inhibir la producción de IgE. La composición con 1-kestosa de esta realización, como un ingrediente activo, es más preferiblemente la 1-kestosa descrita en New Food Material Efficient Use Technology Serie No. 13 "1-kestosa" (publicada por Japan Confectionery and Innovative Food Ingredients Research Center). Los resultados de cada Ejemplo se describirán a continuación para demostrar los efectos supresores de alergia de dicha 1-kestosa.
- 35 [Ejemplo 1]
- 45 "Ejemplo 1: Experimento para confirmar el efecto sobre la producción de IgA" En el Ejemplo 1, se investigó experimentalmente el efecto de 1-kestosa sobre la producción de IgA.

La composición que contiene 1-kestosa utilizada en este Ejemplo 1 es de una pureza de la 1-kestosa de 98%, compuesta por 1-kestosa (98% en peso), nistosa (1,0% en peso) y sacarosa (1,0% en peso). Se administró una composición supresora de alergia, que tiene 1-kestosa como ingrediente activo, a 4 hombres adultos que padecían

síntomas alérgicos, con cada dosis de 3g durante un mes. Se recogieron las heces antes y después de la administración de la composición para medir la IgA y las bacterias intestinales en las heces.

Para medir la IgA, las heces recogidas se diluyeron 20 veces con solución salina tamponada con fosfato (PBS), y se recogió el sobrenadante con un separador centrífugo. Después, se diluyó el líquido 10 veces con agua para hacer una muestra para medición. Además, se prepararon un anticuerpo monoclonal de ratón IgA anti-humano (producto de Nacalai Tesque Inc.) y un anticuerpo marcado con peroxidasa de rábano picante (HRP), marcando el anticuerpo monoclonal de ratón IgA antihumano con HRP. Luego se midió la IgA usando el método ELISA.

Mientras tanto, para medir las bacterias intestinales, se vertió un líquido de muestra para medición sobre un medio de agar de placas planas de 0,05ml y se aplicó allí. Después del cultivo anaerobio de la muestra a 35°C durante 3 a 5 días, se identificaron las bacterias y se halló el recuento bacteriano.

Las Figuras 1 y 2 muestran los resultados de la IgA medida en el Ejemplo 1, y las Figuras 3 a 6 muestran los resultados de las bacterias intestinales medidas. Como se muestra en las Figuras 1 y 2, la concentración de IgA en las heces aumentó en cada sujeto que tomó la composición que contenía 1-kestosa durante un mes, y particularmente en dos o más en sujetos A a C. La concentración de IgA promedio en cada sujeto cambió de 0,61 a 1,06 (µg/ml), demostrando un incremento de 1,7 veces o más. Como consecuencia, se descubrió que el efecto de la ingesta de 1-kestosa aumenta la IgA intestinal.

A continuación se analizarán los resultados de las bacterias intestinales medidas. Como para las bacterias intestinales, se identificaron *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* como una bacteria intestinal útil y *Clostridium* como una bacteria perjudicial. La Figura 3 es una tabla que muestra cada recuento bacteriano y la presencia de bifidobacterias antes de la ingesta de 1-kestosa, y la Figura 4 es una tabla que muestra cada recuento bacteriano y la presencia de bifidobacterias después de la ingesta de 1-kestosa durante un mes. Las Figuras 5 y 6 son gráficos de datos de *Bifidobacterium*. Como se muestra en cada gráfico, los recuentos de bifidobacterias en los sujetos A a D fueron $10^{9,1}$, $10^{9,7}$, $10^{9,7}$, $10^{9,4}$, respectivamente, pero todos aumentaron a $10^{10,0}$, $10^{10,1}$, $10^{10,1}$ y $10^{10,1}$, con la ingesta de 1-kestosa por un mes. El recuento de bifidobacterias promedio aumentó notablemente de $10^{9,5}$ a $10^{10,1}$.

En los sujetos B y C, el recuento de *Clostridium* declinó de $10^{7,1}$ a $10^{6,9}$, y de $10^{7,6}$ a $10^{7,3}$, respectivamente. El recuento de *Clostridium* promedio disminuyó de $10^{7,5}$ a $10^{7,3}$. El recuento bacteriano se obtuvo con 1g de peso húmedo de las heces.

La presencia de bifidobacterias relativa al recuento bacteriano total demostró un incremento significativo en cada sujeto, y la presencia promedio aumentó de 19,97% a 43,05% con la ingesta de 1-kestosa por un mes, lo que produjo la dominancia de *Bifidobacterium* en el tubo digestivo. Los sujetos A y B, en particular, demostraron un incremento en el recuento de bifidobacterias de 11,67% a 52,38% y de 38,57% a 57,14%, respectivamente, excediendo una mitad de cada presencia y con un avance notable en el entorno intestinal. Ya que el tubo digestivo normalmente está ocupado por *Bacteroides* (aprox. 40%) y otros tipos de bacterias (aprox. 20%), *Bifidobacterium* puede ser la bacteria más dominante con una presencia de más de 40%. Este efecto obvio de *Bifidobacterium* demuestra el avance en el entorno intestinal con la ingesta de 1-kestosa de acuerdo con los resultados de este Ejemplo 1.

El análisis de la relación entre *Bifidobacterium* y la alergia demostró el efecto de activar las células inmunitarias tales como los macrófagos y los linfocitos citolíticos naturales continuando con la ingesta oral de *Bifidobacterium*. Según estudios convencionales las bacterias grampositivas como *Bifidobacterium* inducen a las células Th1 que inhiben las enfermedades alérgicas en el sistema inmunitario intestinal. En consecuencia, la activación del crecimiento de una *Bifidobacterium* intestinal puede tener un efecto de prevenir y tratar la alergia.

A partir de los resultados del Ejemplo 1 anterior, la 1-kestosa posee el efecto de aumentar la producción de IgA, el recuento de bifidobacterias y la presencia intestinal, y es una sustancia adecuada para mejorar el entorno intestinal.

[Ejemplo 2]

"Ejemplo 2: Experimento para confirmar el efecto sobre la producción de IgG1 e IgE"

En el Ejemplo 2, para examinar el efecto de 1-kestosa sobre la producción de IgG1 y IgE, se administró 1-kestosa a ratones sin gérmenes para medir las cantidades de IgG1 e IgE en el suero antes y después de la administración de 1-kestosa.

En este Ejemplo 2, los ratones utilizados en el experimento fueron ratas macho de 4 semanas de vida, que nacieron y se criaron en un medio libre de gérmenes (BALB/c), con 10 a 15 ratas por grupo. A estos ratones se les administraron oralmente 0,5ml de un líquido obtenido diluyendo heces de bebés humanos 100 veces, y se observaron en un medio libre de gérmenes durante dos semanas. Después, se administraron oralmente 5mg de ovalbúmina (OVA) a los ratones durante 4 días. Para examinar la existencia de tolerancia inmunitaria, se inyectó un líquido obtenido añadiendo 0,1 mg de gel de hidróxido de aluminio a 1µg de OVA en la cavidad abdominal, 1, 3, 5 y 7 semanas después de la administración oral de OVA. Estos ratones asociados a la flora humana se dividieron en el grupo al que se le administró

1-kestosa y el grupo control al que no se le administró 1-kestosa, y se midieron anti-OVA IgG1 y anti-OVA IgE en el suero por el método ELISA 9 semanas después de la administración de 1-kestosa.

Como consecuencia, como se muestra en la Figura 7 y en la Figura 8, los ratones sin gérmenes exhibieron la producción de anticuerpos, con una IgG1 (anti-OVA IgG1) de 1583 (unidad/ml) e IgE (anti-OVA IgE) de 496 (unidad/ml). Por otra parte, los ratones sin gérmenes exhibieron 4 (unidad/ml) de anti-OVA IgG1 y 33 (unidad/ml) de anti-OVA IgE, valores significativamente inferiores que dichos ratones sin gérmenes, dando como resultado la introducción completa de tolerancia inmunitaria oral. Por lo tanto, se confirmó que el sistema de ensayo para determinar el efecto de tolerancia inmunitaria oral (OVA y gel de hidróxido de aluminio) es apropiado.

En los ratones asociados a la flora humana fijando *faecalis* humano a los ratones sin gérmenes, anti-OVAIgG1 fue 41 (unidad/ml) y anti-OVA IgE fue 204 (unidad/ml) antes de la ingesta de 1-kestosa, teniendo cada uno un valor inferior que aquel de los ratones libres de gérmenes. En el grupo en el que se administró 1-kestosa a los ratones asociados con la flora humana, anti-OVA IgG1 disminuyó hasta 31 (unidad/ml) y anti-OVA IgE hasta 156 (unidad/ml), dando como resultado valores muy inferiores a aquellos de los ratones libres de gérmenes. Esta observación demostró el efecto de 1-kestosa sobre la introducción asegurada de tolerancia inmunitaria oral.

A partir de los resultados del Ejemplo 2 anteriormente expuesto, se confirmó que 1-kestosa tiene el efecto de inhibir la producción de IgG1 e IgE y es una sustancia adecuada para asegurar la tolerancia inmunitaria oral.

[Ejemplo 3]

"Ejemplo 3: Experimento para medir la cantidad de IgE en el suero humano antes y después de administrar 1-kestosa"

En este Ejemplo 3, para examinar el efecto de 1-kestosa sobre la cantidad de IgE en el suero humano, a los sujetos se les administró 1-kestosa para medir la cantidad de IgE no específica en el suero antes y después de la ingesta de 1-kestosa.

Los sujetos fueron dos pacientes voluntarios con síntomas alérgicos (hombre adulto y mujer adulta). Tomaron 3g de 1-kestosa durante un mes y se examinaron los hemoderivados, como IgE no específica, en el suero.

Como resultado, como se muestra en la Figura 9, la IgE no específica del hombre adulto disminuyó de 505 a 354 (IU/ml) con la ingesta de 1-kestosa durante un mes, demostrando un avance bajo un valor estándar de 366. Además, la IgE no específica de la mujer adulta cambió de 381 a 313 (IU/ml), con un avance similar bajo el valor estándar. El valor de la proteína reactiva C (CRP) fue negativo, tanto antes como después de la ingesta de 1-kestosa, sin efectos en las funciones hepáticas, etc., otros órganos y hemoderivados.

A partir de los resultados del Ejemplo 3 anteriormente expuesto, se confirmó que 1-kestosa posee el efecto de inhibir la producción de IgE en seres humanos también.

[Ejemplo 4]

"Ejemplo 4: Experimento para comparar el efecto de mejorar la flora enterobacteriana en la composición de fructooligosacárido"

En este Ejemplo 4, se comparó el efecto de mejorar la flora enterobacteriana de cada composición compuesta por fructooligosacárido, usando ratones sin gérmenes. El fructooligosacárido está compuesto por kestosa (trisacárido), nistosa (tetrasacárido) y F-nistosa (pentasacárido). La kestosa empleada en este Ejemplo 4 está compuesta por 1-kestosa (99,0%), nistosa (0,5%) y sacarosa (0,5%). La nistosa está compuesta por nistosa (99,0%), 1-kestosa (0,9%) y sacarosa (0,1%). La F-nistosa está compuesta por F-nistosa (82,0%), otros pentasacáridos (13,0%) y otros componentes (5,0%). Asimismo, se prepararon los grupos control de ratones a los que se les administró agua estéril con fructooligosacárido usual (1-kestosa: 35,8% en peso, nistosa: 50,9% en peso, F-nistosa: 8,5% en peso), y se obtuvieron sus datos para fines comparativos. La Figura 10 muestra la composición de cada oligosacárido utilizada en el experimento. Cada oligosacárido se administró oralmente a ratones sin gérmenes durante 5 días para determinar la proporción de *Bifidobacterium* proliferada a recuento bacteriano total.

Como resultado, como se muestra en la Figura 11, la proporción de kestosa fue mayor con 12,59%, seguido de 7,94% tanto en nistosa como en F-nistosa. La proporción de fructooligosacárido fue 10,00%. En comparación con los ratones de los grupos control, se halló un avance en la presencia de bifidobacterias y, por ende, en el entorno intestinal, confirmando así el efecto más significativo de la kestosa de mejorar el entorno intestinal.

A partir de los resultados del Ejemplo 4 anteriormente expuesto, se confirmó que 1-kestosa posee el efecto más significativo de proliferar *Bifidobacterium* como una composición de fructooligosacárido, y es una sustancia adecuada para mejorar el entorno intestinal.

[Ejemplo 5]

"Ejemplo 5: Experimento comparativo sobre los efectos positivos de 1-kestosa y fructooligosacárido "

El análisis de los resultados del Ejemplo 4 anteriormente expuesto demostró el efecto más significativo de 1-kestosa sobre la proliferación de *Bifidobacterium* como una composición de fructooligosacárido, y fue más favorable que aquel del fructooligosacárido.

- 5 A partir de esta observación, preparar una pureza superior de 1-kestosa parece eficaz para mejorar el entorno intestinal. Para confirmar un efecto directo de inhibición de la alergia, se analizó experimentalmente en el Ejemplo 5 el efecto de inhibir la IgE mediante la ingesta de 1-kestosa y fructooligosacárido.

10 En este Ejemplo 5, los sujetos fueron 4 mujeres adultas (de 27 a 45 años de edad) con síntomas alérgicos diarios. Tomaron 1-kestosa y fructooligosacárido, y se midió la IgE no específica de cada sujeto. En este experimento, se midió la IgE no específica antes de ingerir las sustancias y luego los sujetos tomaron 3g de 1-kestosa después de la comida una vez al día durante 4 semanas. Se les extrajo sangre 5 semanas después para medir la IgE no específica después de no haber tomado ninguna sustancia durante 2 semanas. Luego los sujetos tomaron 3g de fructooligosacárido después de comer una vez al día durante 4 semanas, y se les extrajo sangre. La 1-kestosa utilizada en este Ejemplo 5 posee una pureza de 95% o más, y el fructooligosacárido comercialmente disponible es nistosa-oligosacárido dominante compuesto por nistosa (51%) y 1-kestosa (36%). En el experimento, los sujetos tomaron menos alimentos saludables como prebióticos y probióticos que contienen otros oligosacáridos y *Lactobacillus*. La Figura 12 muestra los resultados del Ejemplo 5.

Como se muestra en la Figura 12, tres de los 4 sujetos exhibieron una disminución significativa de la IgE no específica con la ingesta de 1-kestosa, pero la ingesta de fructooligosacárido aumentó la IgE no específica en todos los sujetos.

- 20 Específicamente, la IgE no específica en el sujeto A cambió de 541 a 298 (IU/ml) con la ingesta de 1-kestosa, provocando una reducción de aproximadamente 45%. Asimismo, el sujeto B cambió la IgE no específica de 422 a 282 (IU/ml), con una reducción de 32% o más, y el sujeto C cambió la IgE no específica de 323 a 275 (IU/ml), con una reducción de aproximadamente 25%.

- 25 Mientras tanto, la ingesta de fructooligosacárido incrementó la IgE no específica en el sujeto A a 598 (IU/ml) en 10% o más. El sujeto B también aumentó la IgE no específica a 478 (IU/ml), con un incremento de 13% o más, y el sujeto D sufrió un marcado incremento de 11% o más, a 356 (IU/ml).

- 30 El sujeto C no demostró ninguna reducción de la IgE no específica, sino un incremento de aproximadamente 3% con la ingesta de 1-kestosa. La ingesta de fructooligosacárido aumentó este valor en 57% o más. Por consiguiente, se confirmó que la 1-kestosa tiene una función más dominante en el aumento de la IgE no específica que el fructooligosacárido.

De acuerdo con los resultados anteriormente expuestos de este experimento, la IgE no específica promedio cambió de 403,8 a 298,8 (IU/ml) con la ingesta de 1-kestosa, provocando una reducción de aproximadamente 26% o más. No obstante, la ingesta de fructooligosacárido no condujo a dicha reducción, con un incremento de 20% o más, a 487,3 (IU/ml).

- 35 A partir de los resultados del Ejemplo 5 anteriormente expuesto, la 1-kestosa posee el efecto de inhibir la IgE no específica, pero la ingesta de fructooligosacárido no provee dicho efecto y, por el contrario, aumenta la producción de IgE no específica. En vista de los resultados del Ejemplo 4 también, parece que la nistosa y la F-nistosa compuesta por fructooligosacárido anulan el efecto de inhibir la IgE no específica de la 1-kestosa y aumentan la producción de IgE.

- 40 A partir de estas observaciones, se confirmó que el efecto de inhibir la IgE no específica o enfermedades alérgicas puede ser provisto por una composición que contenga 1-kestosa con una alta pureza en fructooligosacáridos, no por una composición basada en nistosa. La 1-kestosa contenida en el fructooligosacárido debe tener una pureza superior a aquella de la nistosa como una primera composición, y la pureza es preferiblemente de 90% o más, y más preferiblemente de 95% o más. Más específicamente, es necesario que la 1-kestosa pueda proveer el efecto de aumentar la producción del anticuerpo IgA o el efecto de inhibir la producción del anticuerpo IgE en gran pureza.

- 45 [Ejemplo 6]

"Ejemplo 6: Experimento para determinar la cantidad eficaz de 1-kestosa"

- 50 De acuerdo con los resultados de cada Ejemplo anteriormente mencionado, se confirmó que un adulto puede tener el efecto de 1-kestosa como prebiótico con una dosis diaria de 3g. Además, los sujetos voluntarios demostraron el efecto de mejorar el movimiento del intestino con una dosis diaria de 2g en un experimento. En este Ejemplo 6, algunos sujetos voluntarios participaron en un experimento para demostrar el efecto de mejorar el movimiento intestinal con una dosis diaria más pequeña de 1g. Los sujetos fueron cuatro hombres adultos sanos, cuyas edades oscilaban entre 38 y 56 años. El sujeto A pesa 67kg, el sujeto B pesa 56kg, el sujeto C pesa 59kg y el sujeto D pesa 63kg.

En el experimento, se recogieron primero las heces de cada sujeto, antes de la ingesta de 1-kestosa, y se realizaron los recuentos de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium* y bacterias totales. Después, los sujetos ingirieron 1g de 1-kestosa una vez al día durante 2 semanas. Quince días más tarde, se recogieron nuevamente las heces de cada sujeto para medir las bacterias intestinales. Luego se les dejó de administrar 1-kestosa por una semana. A partir del día 22, tomaron 3g de 1-kestosa una vez al día durante dos semanas, y se recogieron las heces de cada sujeto en el día 36 para medir las bacterias intestinales. La Figura 13 y la Figura 14 muestran los resultados.

Como se muestra en la Figura 13 y en la Figura 14 en valor logarítmico, todos los sujetos demostraron un incremento en *Bifidobacterium* con la ingesta de 1g o 3g de 1-kestosa. El recuento de bifidobacterias promedio aumentó de $10^{9,73}$ a $10^{9,85}$ con la ingesta de 1g de 1-kestosa una vez al día, y aumentó a $10^{10,18}$ con una ingesta diaria de 3g. A partir de este resultado, se descubrió que la cantidad eficaz de 1-kestosa para un hombre adulto que pesa por lo menos 60kg es 1g por día. Se obtuvo el recuento bacteriano con 1g de peso húmedo de heces.

A su vez, se observó que la ingesta de 1-kestosa no exhibió efectos colaterales. Después de que los sujetos voluntarios recibieron 10g de 1-kestosa una vez por día, no presentaron diarrea con esta ingesta, y se confirmó la ausencia de efectos en los órganos y hemoderivados. En otro experimento que usó otros voluntarios, una ingesta diaria de 1-kestosa de 0,4g por 1kg de peso corporal (o 24g por día en un paciente que pesa 60kg) demostró la ausencia de síntomas de diarrea en el sujeto.

A partir de los resultados del Ejemplo 6 anteriormente expuesto, la cantidad eficaz de 1-kestosa por 1kg de peso corporal fue 0,015 (g/kg de peso corporal) en el sujeto A, 0,018 (g/kg de peso corporal) en el sujeto B, 0,017 (g/kg de peso corporal) en el sujeto C y 0,016 (g/kg de peso corporal) en el sujeto D. El valor promedio fue 0,016 (g/kg de peso corporal). En consecuencia, si hombres adultos toman por lo menos 0,015 (g/kg de peso corporal) o más de 1-kestosa por día como la cantidad eficaz, pueden exhibir un efecto propósito de la presente invención. Por otra parte, una ingesta diaria de 0,4 (g/kg de peso corporal) o menos no causa síntomas como diarrea.

Por lo tanto, la dosis de 1-kestosa con el efecto de tratar la dermatitis atópica de la presente invención se puede determinar de manera acorde, en vista de las condiciones del paciente, como la edad y el peso, la ruta de administración, los síntomas y la gravedad de la enfermedad. Por ejemplo, la dosis diaria de 1-kestosa para un adulto (peso corporal: 60kg) es preferiblemente 0,9 a 24g y más preferiblemente 2 a 6g en la administración oral. Para un niño pequeño (peso corporal: 10kg), la dosis diaria de 1-kestosa es preferiblemente 0,15 a 4g y más preferiblemente 0,3 a 3g en la administración oral. En cuanto a la administración rectal, la dosis diaria de 1-kestosa para un adulto (peso corporal: 60kg) es preferiblemente 0,9 a 24g y más preferiblemente 2 a 6g.

[Ejemplo 7]

"Ejemplo 7: Ensayo clínico en pacientes con dermatitis atópica que reciben 1-kestosa"

De acuerdo con los resultados de cada Ejemplo anteriormente mencionado, se confirmó que 1-kestosa posee los efectos de inhibir un anticuerpo IgE como agente causante de alergia, aumentando la producción del anticuerpo IgA y activando la proliferación de *Bifidobacterium* en adultos con síntomas alérgicos diarios. El Ejemplo 7 se centra entonces en las posibilidades de tratar la diatesis atópica en pacientes lactantes alérgicos y prevenir diversos síntomas alérgicos subsiguientes en un ensayo clínico, que usa bebés con síntomas de dermatitis atópica.

Los sujetos del ensayo fueron 13 bebés con dermatitis atópica y erupción leve e intensa (edad: 0 a 3 años) con síntomas acompañantes de alergia a los alimentos. El ensayo fue aprobado por los padres de los sujetos.

En el ensayo clínico, se mantuvo a los sujetos en observación durante 2 semanas, y se les administró 1-kestosa con una pureza de 98% mezclada con agua o jugo una vez al día durante 12 semanas. A los sujetos de un año de edad o menos se les proporcionó 1g de 1-kestosa una vez al día, y a aquellos entre 2 y 3 años se les proporcionaron 2g de 1-kestosa por día. Los sujetos del ensayo no utilizaron ninguna preparación externa de esteroides durante un mes o más, antes de la ingesta de 1-kestosa. Durante el ensayo, los sujetos fueron tratados principalmente con un humectante e ingirieron alimentos sin alérgenos.

Los sujetos fueron diagnosticados al comienzo, 6 y 12 semanas después de la ingesta de 1-kestosa, y 4 a 8 semanas después de completar toda la ingesta, para evaluar los resultados del ensayo clínico (examen de intensidad en la dermis y muestras de heces). La inspección 4 a 8 semanas después de completar la ingesta tuvo como objetivo examinar el efecto sostenido de eficacia del fármaco. En la inspección de la muestra de materia fecal, se recogieron las heces de los sujetos para calcular la presencia de bifidobacterias en las heces. La intensidad de la erupción se examinó usando el Método de Determinación de Intensidad de *Severity Discussion Committee of Japanese Dermatological Association*, en donde se divide todo el cuerpo en 5 regiones: cabeza, partes anterior y posterior del tronco, extremidades superiores e inferiores, la suma de todas las evaluaciones se calcula en cada región (en escalas de 0 a 4). La Figura 15 muestra los resultados.

De acuerdo con la determinación de intensidad en la dermis, como se muestra en la Figura 15, todos los sujetos que tomaron 1-kestosa exhibieron una mejoría significativa de la erupción. En particular, a 6 (sujetos 3, 4, 5, 8, 12 y 13) de 13 sujetos les desapareció completamente la erupción enseguida, 4 a 8 semanas después de la ingesta de 1-kestosa por 12 semanas. Siete (sujetos 3, 4, 5, 6, 9, 12 y 13) de 11 sujetos no exhibieron deterioros ni aparición 4 a 8 semanas después de la ingesta de 1-kestosa por 12 semanas, lo que resultó en un efecto continuado de la mejoría de la erupción con 1-kestosa. Este efecto es el más importante en el tratamiento de la dermatitis atópica, y se confirmó que la 1-kestosa cumple una función importante en la mejoría de la erupción. Si bien este ensayo se llevó a cabo en una etapa de exacerbación de principios del verano, puede evaluarse dicho efecto de mejoría, además de la ausencia de exacerbación de los síntomas.

La presencia de bifidobacterias en las heces aumentó en 10 (sujetos 1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11 y 13) de 12 sujetos con la ingesta de 1-kestosa por 12 semanas, excepto por el sujeto 12, que no pudo aportar una muestra de materia fecal, con una mejoría en la composición de la flora enterobacteriana. La presencia de bifidobacterias promedio en 9 sujetos que pudieron participar en las 4 inspecciones de muestras de materia fecal fue 30,1% antes de la ingesta de 1-kestosa, pero aumentó notablemente a 42,3% y 56,0%, 6 y 12 semanas después de la ingesta de 1-kestosa, respectivamente. Con una presencia de bifidobacterias de bebés usuales a 50% o más, se observa que el efecto de la presencia de bifidobacterias cada vez mayor por 1-kestosa en este ensayo clínico fue bastante notoria.

No obstante, algunos sujetos mantuvieron un alto nivel de presencia de bifidobacterias promedio 4 a 8 semanas después de la ingesta de 1-kestosa por 12 semanas, indicando así una tendencia descendente total con una presencia promedio reducida de 32,7%. En consecuencia, es conveniente que 1-kestosa se tome de manera continua para mantener la presencia de bifidobacterias. Como se mencionó anteriormente, se descubrió el efecto de mejorar la erupción a pesar de la reducción en el recuento de bifidobacterias.

Las observaciones de la erupción y de la presencia de bifidobacterias se analizaron estadísticamente. La erupción al comienzo, a las 6 y a las 12 semanas de la ingesta de 1-kestosa y 4 a 8 semanas después de completar la ingesta, se definió como 4 puntos y se comparó entre 2 grupos de acuerdo a un método modelo de ensayo de múltiples grupos. Como resultado de este ensayo paramétrico (prueba PLSD de Fisher), hubo diferencias significativas entre el comienzo y las 12 semanas después de la ingesta de 1-kestosa, y entre el comienzo y las 4 a 8 semanas después de completar la ingesta. En esta comparación, los valores p fueron 0,0022 y 0,0025, respectivamente. Luego, como en el análisis de erupción, la presencia de bifidobacterias (proporción de *Bifidobacterium* a recuento bacteriano total) se analizó entre los 2 grupos.

Hubo una diferencia significativa entre el comienzo y las 12 semanas después de la ingesta de 1-kestosa, con un valor p de 0,0308.

Asimismo, no se observaron efectos colaterales como diarrea, con la ingesta de 1-kestosa, y se obtuvieron resultados útiles como mejores movimientos intestinales en muchos sujetos. El sujeto 4 tuvo una diarrea pasajera, probablemente debido a un efecto colateral de la ingesta de 1-kestosa, pero este síntoma se redujo durante la ingesta.

A partir de los resultados del Ejemplo 7 anteriormente expuesto, se confirmó que la ingesta de 1-kestosa no solamente mejoró la erupción, sino que además aumentó la presencia de bifidobacterias en las heces. Cuatro a 8 semanas después de la ingesta de 1-kestosa durante 12 semanas, la presencia de bifidobacterias en las heces declinó al valor del comienzo de la ingesta, pero se mantuvo el efecto de mejoría de la erupción. Por lo tanto, se confirmó también que 1-kestosa es eficaz para tratar y prevenir síntomas en la dermis tales como piel seca, grietas, eritema, abrasión, descamación de queratina y dermatitis atópica, en bebés que tienen síntomas de tipo sensación de comezón y dolor.

"Ejemplo 8: Ejemplo de producción de un alimento que contiene 1-kestosa"

[Ejemplo de producción de alimento 1: 30 galletitas que contienen 1-kestosa, contenido; 1g/unidad]

Se mezclaron los siguientes ingredientes hasta que se extrajo la humedad: 100g de harina Sakusaku (almidón de sagú), 50g de harina de tapioca (almidón de mandioca), 9g de polvo de calabaza (calabaza al vapor, seca y en polvo), 1g de bicarbonato sódico, 30g de 1-kestosa, 12g de grasa de semilla de algodón (se utiliza en lugar de mantequilla sin sal, producto de Tsuji Safe Food para enfermedades alérgicas), 24g de aceite de uva (producto para enfermedades alérgicas), unas gotas de jugo de limón y una gota de extracto de vainilla. Luego se añaden 125cc de agua hervida y se amasa hasta obtener una masa de la consistencia del lóbulo de la oreja.

Después la masa se coloca en un papel para horno, se la mantiene seca cubriéndola con una envoltura de film y se amasa con un palote hasta lograr un espesor de 5 mm. Se quita la envoltura, se le da la forma deseada, y el resto de la masa se quita del papel para horno y se coloca en otro papel para horno a fin de moldear nuevamente. El papel para horno con la masa se coloca en una placa superior y la masa se cocina en el horno a 180°C durante 15 minutos para hacer las galletitas.

En comparación con las galletitas producidas usando una cantidad equivalente de azúcar que de 1-kestosa, el producto fue menos dulce pero con la misma sensación en el paladar. Con la cantidad total de 30 g entre 1-kestosa y azúcar, las galletitas se produjeron exitosamente, incluso cuando se cambió la relación de mezcla de 1-kestosa y azúcar

[Ejemplo de producción de alimento 2: 12 bolas de masa hervida de harina de arroz que contienen 1-kestosa, contenido; 1,25g/unidad]

Se mezclaron los siguientes ingredientes: 100g de harina Sakusaku (almidón de sagú), 100g de harina de tapioca (almidón de mandioca), 15g de 1-kestosa y 15g de azúcar. Luego se añadieron lentamente 220cc de agua hervida, y se amasó hasta obtener una masa con la consistencia del lóbulo de la oreja. Se cortó la masa en tres partes iguales y se mantuvo seca cubriéndola con una envoltura de plástico, se añadió 1g de té en polvo a una de las partes cortadas, 7g de mermelada de fresas mezclada a la otra parte, y a la tercera parte no se le añadió nada. Estas 3 masas se esparcieron en una barra de 3cm de diámetro, cada una de ellas se cortó en 12 piezas iguales y se les dio forma de bola. La masa redondeada se vertió en una cacerola de agua hirviendo. La bola de mermelada caliente se colocó en un palillo, seguida de una bola de té en polvo y luego de la bola sin saborizar.

En comparación con bolas de masa hervidas producidas con una cantidad equivalente de azúcar que de 1-kestosa, el producto fue menos dulce, pero produjo la misma sensación en el paladar. Con una cantidad total de 30 g entre 1-kestosa y azúcar, se produjeron bolas de masa exitosas, incluso cuando se modificó la relación de mezcla de 1-kestosa y azúcar.

[Ejemplo de producción de alimento 3: 4 Pudines que contienen 1-kestosa, contenido; 2,5g/unidad]

Se añadieron 3g de polvo de calabaza (calabaza al vapor, seca y en polvo), mezclado con 200cc de agua, a 60g de leche en polvo para enfermedades alérgicas (Morinaga New MA1 o Meiji Nobiyaka); la leche preparada se produjo de antemano.

A su vez, se mezclaron 18g de polvo de agar, 10g de 1-kestosa y 10g de azúcar; se añadieron 200cc de agua y se dejó en reposo durante 10 minutos. La mezcla se calentó añadiendo la leche anteriormente preparada bien mezclada, se detuvo el calentamiento y se añadió una gota de extracto de vainilla. Estos ingredientes se introdujeron en un molde, se enfrió y se endureció.

Por otra parte, se dispusieron 18g de azúcar granulado en una cacerola que se agitó mientras se calentaba. Cuando el azúcar se tostó, se quitó la cacerola de la llama y se añadieron 30cc de agua caliente, se esparció para preparar un jarabe para pudín. El jarabe se dejó enfriar y se endurecieron los pudines.

En comparación con pudines producidos usando una cantidad equivalente de azúcar que de 1-kestosa, el producto fue menos dulce, pero con la misma sensación en el paladar. Con la cantidad total de 20 g de 1-kestosa y azúcar, se produjeron pudines exitosamente, incluso cuando se cambió la relación de mezcla de 1-kestosa y azúcar.

[Ejemplo de producción de alimento 4: 500g de helado que contiene 1-kestosa, contenido; 2g/50g]

Se mezclaron 9g de polvo de agar y 20g de 1-kestosa, y se añadieron 100cc de agua y se mezcló, se mantuvo en reposo durante 10 minutos y se calentó y fundió. Se añadieron 110g de leche en polvo para enfermedades alérgicas (Morinaga New MA1 o Meiji Nobiyaka), se mezcló con 200cc de agua y 100g de puré de durazno amarillo (durazno amarillo enlatado y jarabe mezclados en una procesadora de alimentos), se calentó, se mezcló bien y se añadió una gota de extracto de vainilla. Después de poner estos ingredientes en un recipiente Tupperware y enfriar, se colocó en el refrigerador para enfriar y endurecer el helado. El helado endurecido se colocó en una procesadora de alimentos para enfriar y endurecer nuevamente. Se sirvieron, con una cuchara de helado, porciones de aproximadamente 50g.

En comparación con un helado producido usando una cantidad equivalente de azúcar que de 1-kestosa, el producto fue menos dulce, pero con la misma sensación en el paladar. Con la cantidad total de 20 g de 1-kestosa y azúcar, el helado se produjo exitosamente, incluso cuando se cambió la relación de mezcla de 1-kestosa y azúcar.

[Ejemplo de producción de alimento 5: 350g de pastel que contiene 1-kestosa, contenido; 3g/35g]

Se rallan 80g de batatas Dioscorea peladas embebidas en vinagre y se mezclan con 30g de azúcar dos veces (60g en total), se añaden 30g de 1-kestosa y se mezcla bien. Se añade lentamente una mezcla de 70g de zanahorias ralladas, 20cc de agua y 1g de bicarbonato de sodio, y se mezcla. Después se tamizan 90g de harina de arroz de calidad, se añaden a la preparación y se mezcla bien, se coloca en un molde y se deja reposar durante 20 minutos. Se colocan palitos chinos en mitades en una vaporera, se dispone allí el molde de arriba, y la mezcla se cocina al vapor durante aproximadamente 20 minutos. Después de enfriar el pastel, se desmolda y se corta en porciones de aproximadamente 35g.

En comparación con un pastel producido usando la cantidad equivalente de azúcar que de 1-kestosa, el producto fue menos dulce pero con la misma sensación en el paladar. Con la cantidad total de 90 g de 1-kestosa y azúcar, el pastel

se produjo exitosamente, incluso cuando se modificó la relación de mezcla de 1-kestosa y azúcar. No obstante, la relación de mezcla utilizada en este Ejemplo fue apropiada en vista del volumen del pastel requerido.

A partir de los resultados del Ejemplo 8 anterior, se confirmó que se pueden producir distintos alimentos que contengan 1-kestosa. Además, si el azúcar se reemplaza con 1-kestosa, los productos alimenticios proveen el mismo nivel de dulzura y sensación en el paladar, y pueden ser también fácilmente ingeridos por bebés.

El Ejemplo 8 muestra un método para producir alimentos que contienen 1-kestosa que no usa huevos, leche, soja ni trigo, que conducen a alérgenos en los alimentos, pero la harina Sakusaku y la harina de tapioca pueden reemplazarse con harina de trigo para usuarios no alérgicos a los alimentos, y los materiales para propensión alérgica pueden reemplazarse con los usuales.

"Ejemplo 9: Producción de fármacos que contienen 1-kestosa"

A continuación se describirán métodos para producir fármacos principalmente para dermatitis atópica, que emplean 1-kestosa.

[Ejemplo de producción de fármaco 1: fármaco en polvo que contiene 1,000g de 1-kestosa, contenido; 800mg/1g]

En el Ejemplo de producción de fármaco 1, después de mezclar bien 800g de 1-kestosa y 200g de lactosa, se añadieron 300ml de etanol al 90%, y la mezcla se humedeció. Después de granular polvo húmedo, se aireó y se mantuvo en seco a 60°C durante 16 horas. Después de secar, se obtuvo un fármaco en polvo de granularidad apropiada elaborando su tamaño de partícula.

[Ejemplo de producción de fármaco 2: comprimidos que contienen 5,000 de 1-kestosa, contenido; 60mg/comprimido]

Los comprimidos del Ejemplo de producción de fármaco 2 se pueden producir elaborando una mezcla de polvo que contiene 1-kestosa, granulando y añadiendo un disgregante o lubricante y formando comprimidos. Específicamente, después de mezclar 300g de 1-kestosa, 380g de jarabe de azúcar de malta reducido en polvo, 180g de almidón de arroz, 100g de dextrina, se añaden 300ml de etanol al 90% y se mantiene en condiciones húmedas. Después de extruir y granular el polvo húmedo, se aireó y mantuvo seco a 60°C durante 16 horas. Después de secar, los gránulos se granularon con un tamiz de 850 μ m y se añadieron 50g de éster de ácido graso de sacarosa a 470g de gránulos, y se mezcló. Después se formaron los comprimidos con una máquina giratoria formadora de comprimidos (6B-2, KIKUSUI SEISAKUSHO LTD.) para obtener 200mg de comprimidos de 8mm de diámetro.

A partir de los resultados del Ejemplo 9 anterior, se puede producir 1-kestosa en la forma de alimento y fármaco, y se confirmó que se puede utilizar como producto farmacéutico.

El agente supresor de alergia que contiene 1-kestosa como ingrediente principal, como se muestra en el Ejemplo 9, no se limita a las condiciones anteriormente expuestas y, por consiguiente, puede alterarse. Por ejemplo, puede no tomarse solamente una vez al día, sino dos veces por separado hasta 4 veces al día. El método de administración del agente supresor de alergia no se limita específicamente y puede ser oral o rectal según el tipo y la afección del paciente. Además, la forma de dosificación no se limita específicamente y puede seleccionarse según el método de administración del agente supresor de alergia. Por ejemplo, la forma de dosificación para administración oral puede ser un fármaco en polvo, comprimido, comprimido recubierto con azúcar, cápsula, gránulo, jarabe seco, solución, jarabe, gragea, bebida saludable y otra sustancia sólida o líquida.

La composición supresora de alergia, el alimento supresor de alergia y el agente supresor de alergia anteriormente mencionados de cada realización tienen el efecto de inhibir la producción del anticuerpo IgE (IgG1) como agente causante de alergia, el efecto de aumentar la producción de anticuerpo IgA que principalmente mantiene la tolerancia inmunitaria intestinal, el efecto de activar el crecimiento de una *Bifidobacterium* intestinal y el efecto de mejorar el entorno intestinal en la prevención y el tratamiento de enfermedades alérgicas.

Particularmente, hubo un efecto significativo de aliviar la dermatitis atópica en bebés y niños pequeños. A su vez, 1-kestosa es una sustancia altamente segura de baja higroscopicidad y alta solubilidad, lo que produce un fármaco adecuado para ingerir y beber a diario, en el caso de bebés y niños pequeños, y un efecto altamente preventivo con el uso a largo plazo. Al aliviar la dermatitis atópica en lactantes, se espera que la marcha alérgica en pacientes con diatesis atópica pueda prevenirse eficazmente o inhibirse.

La composición que tiene los efectos anteriormente mencionados preferiblemente propone una alta pureza de 1-kestosa contenida en la misma. Se requiere que la 1-kestosa contenida tenga una pureza superior a aquella de la nistosa, y la pureza es preferiblemente de 90% o más, y más preferiblemente de 95% o más.

Por ejemplo, el oligosacárido, principalmente compuesto por 1-kestosa utilizado en esta realización, puede contener otras composiciones como nistosa y sacarosa, pero no se limita a estas sustancias. El uso de 1-kestosa cristalizada puede lograrse obviamente, y se puede mezclar 1-kestosa con cualquier tipo de material en cualquier relación,

5 particularmente con otros materiales útiles tales como material celular viable útil y polisacárido derivado de hongos. Asimismo, el oligosacárido puede utilizarse con alimento fermentado de *Lactobacilluse*, como yogur. Se puede tomar en la forma de polvo, su mezcla, comprimidos, cápsulas y similares. Por ejemplo, usando 50 partes en peso de 1-kestosa, 30 partes en peso de dextrina y 20 partes en peso de aceite vegetal, la 1-kestosa puede estar contenida en caramelos anti-dermatitis atópica de acuerdo con un método de producción convencional.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal para uso en la prevención o el tratamiento de alergia, donde la cantidad de 1-kestosa es mayor que aquella de la nistosa.
- 5 2. La composición para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la composición se utiliza para aumentar la producción de anticuerpo IgA.
3. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, para inhibir la producción de anticuerpo IgE.
4. La composición para uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para activar el crecimiento de una *Bifidobacterium* enteral en lactantes y niños pequeños.
- 10 5. Una composición que comprende oligosacárido con 1-kestosa como ingrediente principal para uso en el alivio de la dermatitis atópica en lactantes y niños pequeños, en la que la cantidad de 1-kestosa es mayor que aquella de la nistosa.
6. La composición para uso según lo expuesto en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicha 1-kestosa es una kestosa cristalizada con una pureza de 95% o más.
- 15 7. La composición para uso según lo expuesto en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que se formula en una dosis eficaz diaria de 0,015 (g/kg de peso corporal) o más.
8. La composición para uso según lo expuesto en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en la que la composición se utiliza como alimento.

Fig. 1

Concentración de IgA en heces $\mu\text{g/ml}$					
Sujeto	A	B	C	D	Promedio
Antes de la ingesta de 1-kestosa	0,85	0,51	0,12	0,95	0,61
Después de la ingesta de 1-kestosa	1,74	1,06	0,27	1,18	1,06

Fig.2

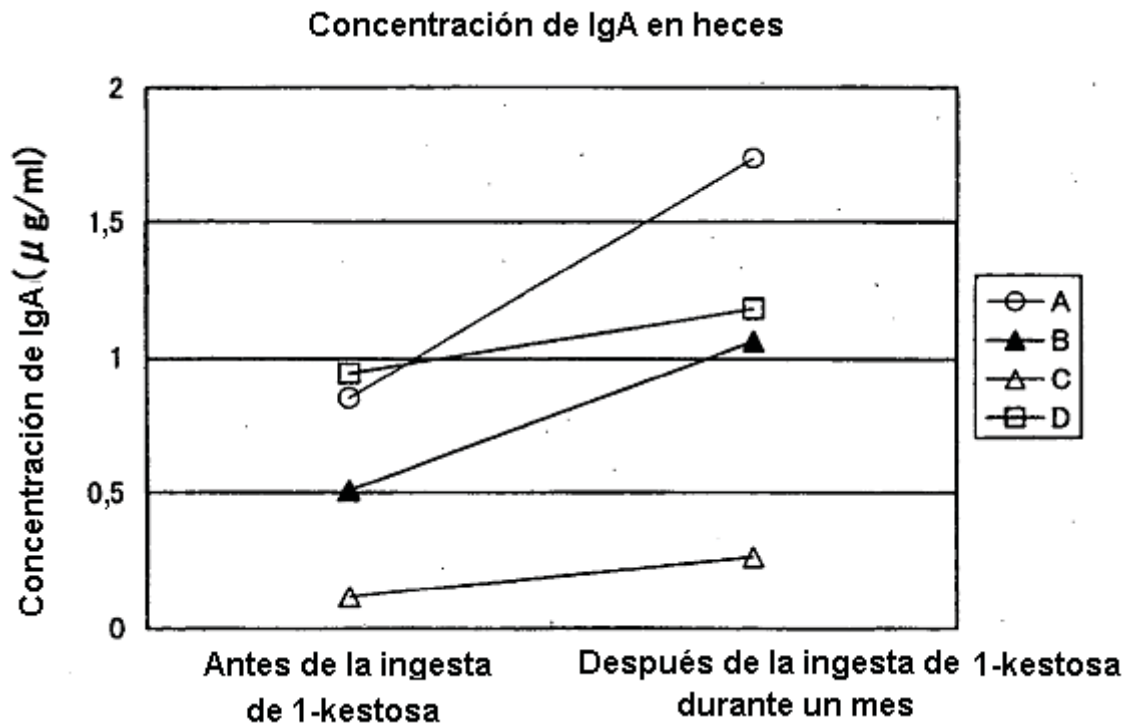


Fig.3

Antes de la ingesta de 1-kestosa

(recuento bacteriano en valor logarítmico común, presencia en %)

Sujeto	A	B	C	D	Promedio
Recuento bacteriano total	10,2	10,1	10,2	10,7	10,3
<i>Bifidobacterium</i>	9,1	9,7	9,7	9,4	9,5
<i>Lactobacillus</i>	6,1	5,9	0,0	2,6	3,7
<i>Clostridium</i>	7,4	7,1	7,6	7,7	7,5
Presencia de bifidobacterias	11,67	38,57	9,64	20,00	19,97

5 Fig.4

Después de la ingesta de 5g de 1-kestosa durante un mes

(recuento bacteriano en valor logarítmico común, presencia en %)

Sujeto	A	B	C	D	Promedio
Recuento bacteriano total	11,0	10,3	10,3	10,7	10,6
<i>Bifidobacterium</i>	10	10,1	10,1	10,1	10,1
<i>Lactobacillus</i>	9,1	4,0	2,8	7,6	5,9
<i>Clostridium</i>	7,4	6,9	7,3	7,7	7,3
Presencia de bifidobacterias	52,38	57,14	25,53	37,14	43,05

Fig. 5

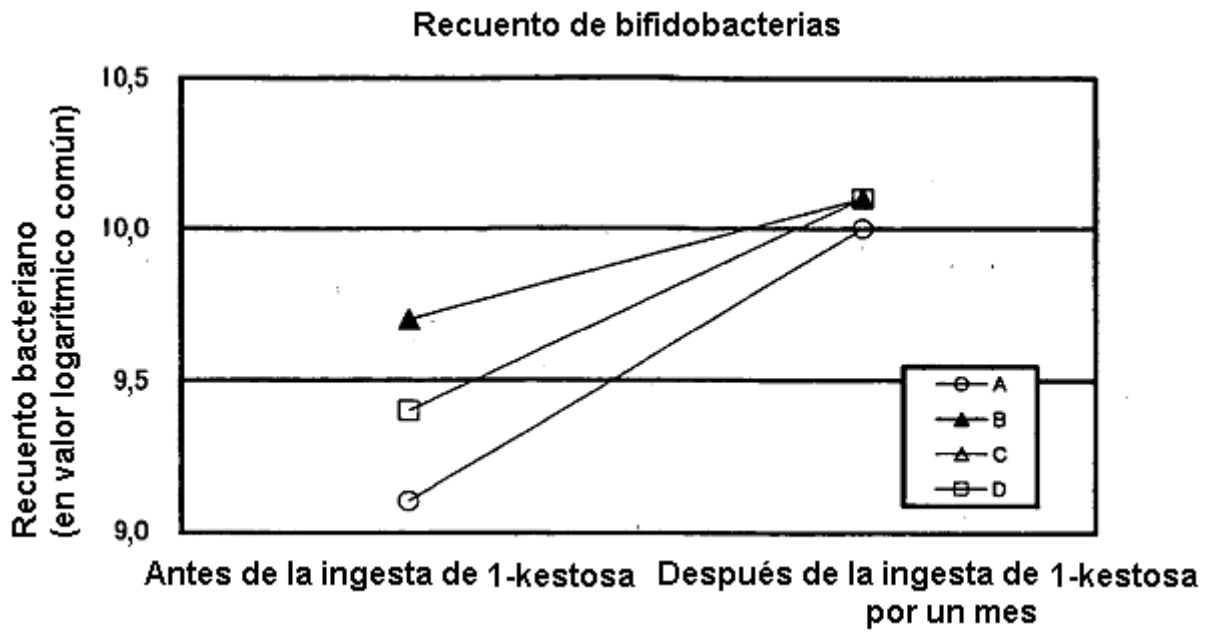


Fig. 6

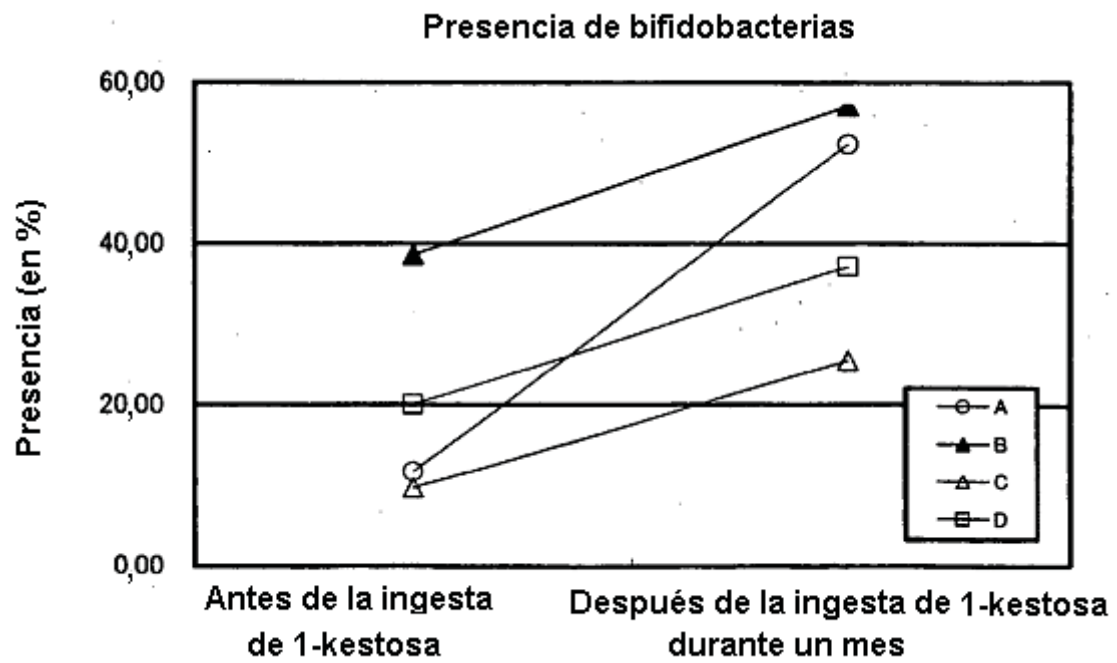


Fig. 7

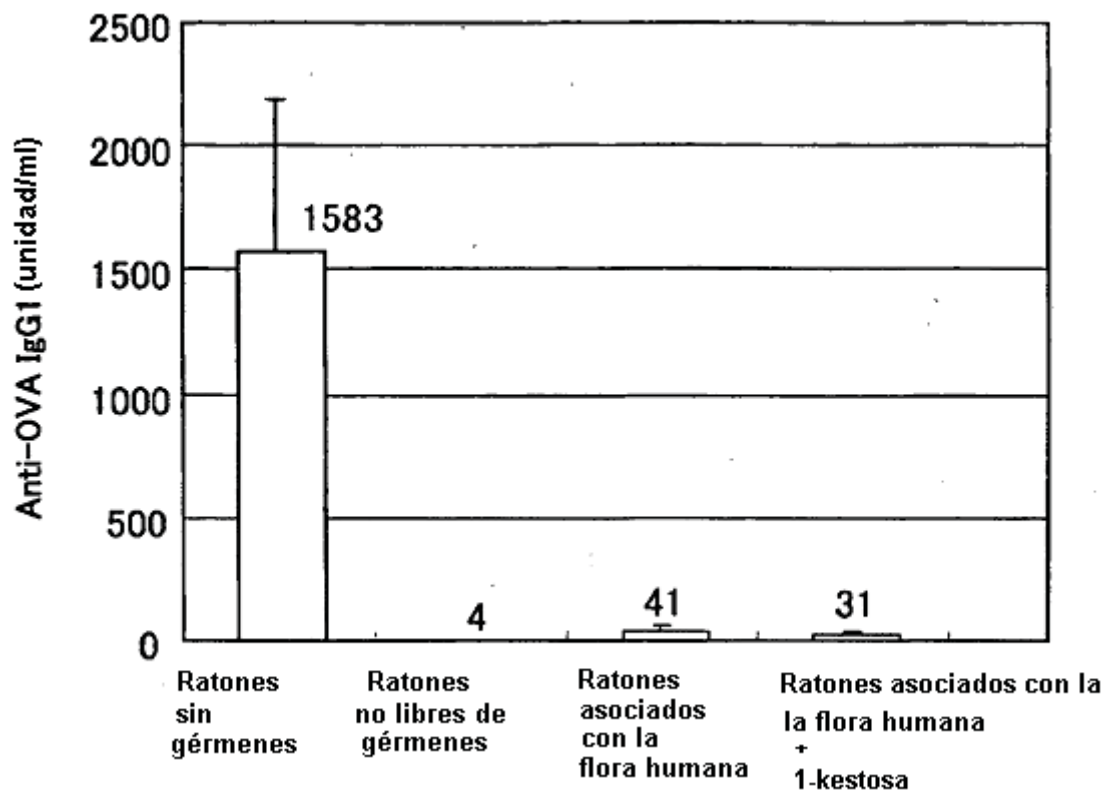


Fig. 8

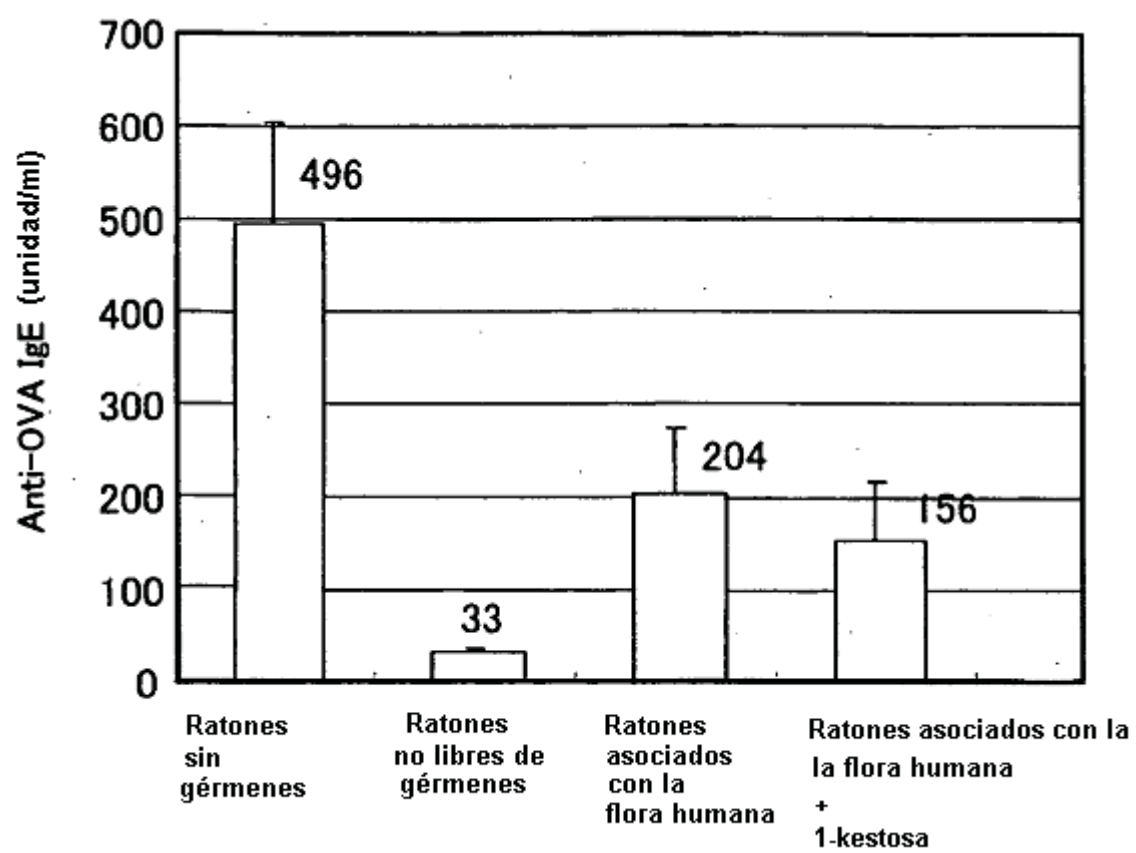


Fig.9

Artículos para hemoanálisis

Tipo de examen	Artículo a controlar	A (hombre)		B (mujer)	
		Antes de la ingesta de 1-kestosa	Después de la ingesta de 1-kestosa	Antes de la ingesta de 1-kestosa	Después de la ingesta de 1-kestosa
Sangre periférica	Eritrocito (10.000/mm ³)	487	497	400	403
	Hemoglobina (g/dl(%))	14,6	14,9	12,6	12,4
	Hematocrito (%)	44,8	45,2	38,6	38
	Plaquetas en sangre	19,1	19,1	26,6	24,3
	Recuento de glóbulos blancos (/mm ³)	4100	3900	7600	7800
Hemograma	NEUT	46	53	63	66
	LYM	43	36	31	27
	MON	5	6	3	4
	EOS (eosinófilo)	5	4	3	3
	BAS	1	1	0	0
Inmunidad	IgE no específica	505	354	381	313
Función hepática	GOT (IU/L)	28	29	18	19
	GPT (IU/L)	23	21	13	14
	γ-GTP(IU/L)	48	56	17	15
	ALP (IU/L)	328	310	128	123
Lípido en sangre	Colesterol total (mg/dl)	184	208	142	126
	Triglicérido (mg/dl)	123	77	39	34
	Colesterol HDL (mg/dl)	52	59	65	67
	Nivel de ácido úrico (mg/dl)	6,0	5,1	4,5	4
	Nivel de glucosa en sangre (mg/dl)	94	99	83	84
Otros	CRP (proteína reactiva C)	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo

Fig. 10

Composición de cada oligosacárido utilizado (%)

Composición	Kestosa	Nistosa	F- nistosa	FOS
Fructosa				0,6
Glucosa				0,1
Sacarosa	0,5	0,1		1,3
n-kestosa				0,7
1-kestosa	99,0	0,9		35,8
Nistosa	0,5	99,0		50,9
F-nistosa			82,0	8,5
Otros pentasacáridos			13,0	
Otros			5,0	2,1

Fig. 11

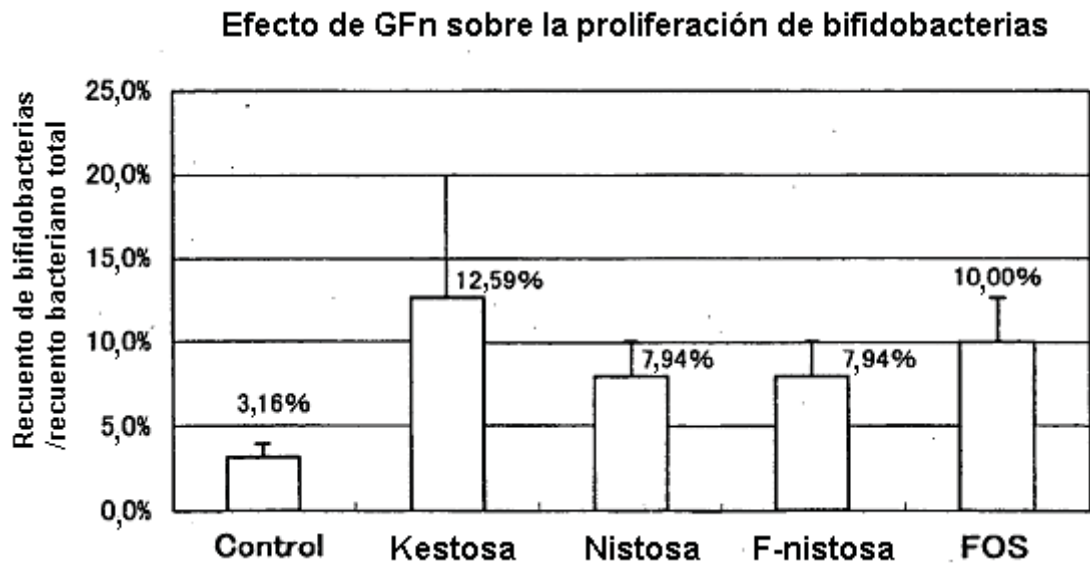


Fig. 12

Resultados de la IgE no específica (IU/ml) medida

Sujeto	Antes de la ingesta de oligosacáridos	Después de la ingesta de 1-kestosa	Después de la ingesta de fructooligosacárido (FOS)
A	541	298	598
B	422	282	478
C	329	340	517
D	323	275	356
Promedio	403,8	298,8	487,3
Porcentaje	100	74	121

Fig. 13

Cepa bacteriana	Ingesta de 1-kestosa	Sujeto (Peso corporal)				
		A(67kg)	B(56kg)	C(59kg)	D(63kg)	Promedio (61,25kg)
Recuento bacteriano total	0g	10,5	10,8	10,5	10,7	10,63
	1g	10,3	10,9	10,5	10,9	10,65
	3g	10,1	11,0	10,7	11,1	10,73
<i>Bifidobacterium</i>	0g	9,3	9,4	10,0	10,2	9,73
	1g	9,5	9,5	10,1	10,3	9,85
	3g	9,8	10,0	10,3	10,6	10,18
<i>Lactobacillus</i>	0g	5,7	5,4	0,0	4,2	3,83
	1g	7,4	5,6	3,8	4,0	5,20
	3g	8,1	5,1	0,0	5,3	4,63
<i>Clostridium</i>	0g	7,9	7,2	7,1	6,6	7,20
	1g	7,7	6,6	7,4	6,8	7,13
	3g	4,6	5,7	7,3	6,6	6,05

5 (Recuento bacteriano en valor logarítmico común)

Fig. 14

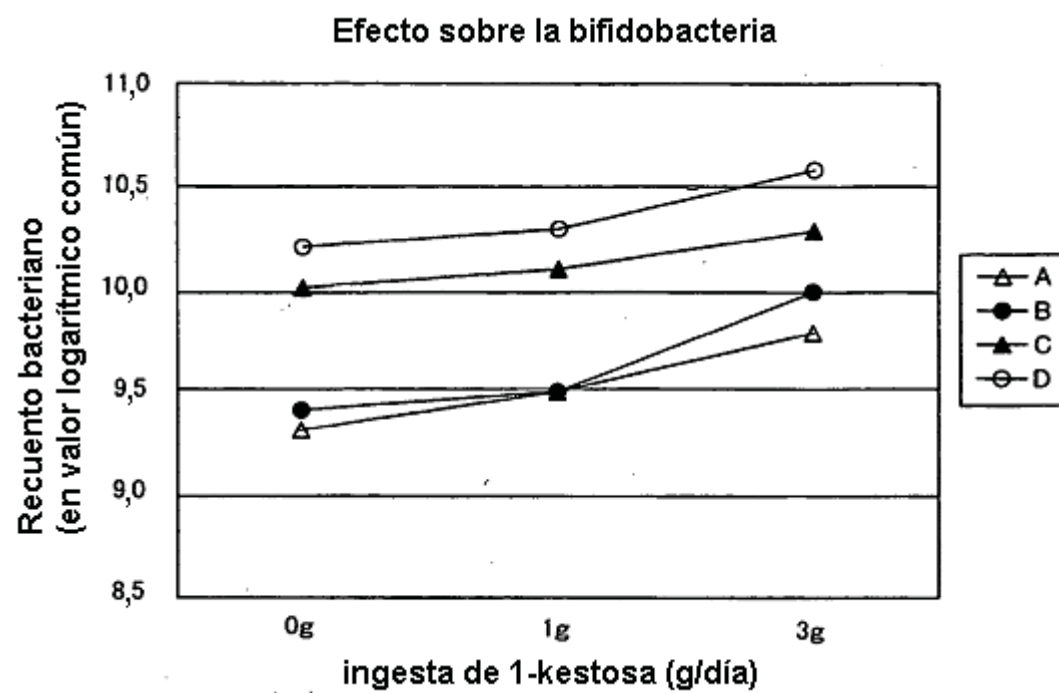


Fig. 15

Núm. de sujeto	Edad (en años)	Sexo	Intensidad preoperatoria	Clasificación por método CAP-RAST (0-6)					Determinación de intensidad dérmica (0 a 4) (Suma de evaluaciones por región)				Presencia de bifidobacterias (56)				Efecto colateral como diarrea por la ingesta
				Huevo	Leche	Soja	Trigo	Ácaro	Al comienzo	6 sem. después	12 sem. después	Después de discontinuar la ingesta	Al comienzo	6 sem. después	12 sem. después	Después de discontinuar la ingesta	
1	0 y. 5 m.	F.	Intensa	4					13	5	1	-	0,0	-	60,9	-	Ninguno
2	0 y. 5 m.	M.	Intensa		1				18	12	11	12	0,0	17,1	88,4	10,4	Ninguno
3	0 y. 6 m.	M.	Moderada	3					5	3	1	0	35,7	89,5	92,8	80,0	Ninguno
4	0 y. 11 m.	F.	Moderada	4	2	1	3		8	2	1	0	33,3	40,0	27,3	15,8	Restaurado después de diarrea pasajera
5	1 y. 2 m.	M.	Moderada	6	3	2	3	3	10	1	0	0	56,5	66,7	81,9	60,0	Ninguno
6	1 y. 4 m.	M.	Moderada	4	2	2	2	3	10	4	3	2	20,0	51,0	21,6	16,1	Ninguno
7	2 y. 1 m.	M.	Intensa	3				4	13	12	9	12	33,3	16,7	20,5	30,8	Ninguno
8	2 y. 6 m.	F.	Moderada	5	4	4	4	2	6	4	0	1	0,0	84,2	45,5	-	Ninguno
9	2 y. 3 m.	F.	Intensa	5	5	3		6	13	7	3	1	34,1	59,2	56,4	500	Ninguno
10	2 y. 4 m.	F.	Moderada	2	2			5	9	6	1	-	38,2	-	61,5	-	Ninguno
11	2 y. 7 m.	M.	Moderada	6	5	4		6	9	6	2	3	37,9	25,1	90,7	20,7	Ninguno
12	3 y. 1 m.	M.	Ninguna	6	6			3	2	0	0	0	13,6	-	-	-	Ninguno
13	3 y. 4 m.	M.	Leve	5	5	5	5	6	3	1	0	0	20,0	15,2	44,4	10,5	Ninguno