

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 262**

51 Int. Cl.:

**A23D 9/00** (2006.01)

**A23L 1/052** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

**A61K 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2012 E 12772944 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2015 EP 2768313**

54 Título: **Composición para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio**

30 Prioridad:

**18.10.2011 EP 11185610**

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

**22.09.2015**

73 Titular/es:

**NESTEC S.A. (100.0%)  
Avenue Nestlé 55  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**GARCIA-RODENAS, CLARA;  
HOPPLER, MATTHIAS y  
OFFORD CAVIN, ELIZABETH**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 546 262 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCION**

Composición para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a una composición para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio. La composición es para utilizar en mamíferos, de preferencia en humanos, con mayor preferencia en bebés.

10

Antecedentes de la invención

El magnesio (Mg) es el segundo catión intracelular más abundante y en general, el cuarto catión más abundante. Casi todos los procesos enzimáticos que utilizan el fósforo como una fuente de energía, requieren magnesio para su activación. El magnesio está implicado en casi todos los aspectos del metabolismo bioquímico (por ejemplo, la síntesis del ADN y de la proteína, la glicolisis, la fosforilación oxidante). Casi todas las enzimas implicadas en las reacciones del fósforo (por ejemplo, la adenosin trifosfatasa (ATPasa) requieren magnesio para su activación). El magnesio sirve como estabilizador molecular del ARN, ADN, y de los ribosomas. Debido a que el magnesio está unido al ATP en el interior de la célula, las variaciones en la concentración del magnesio intracelular pueden ayudar a regular los procesos bioenergéticos de la célula, como por ejemplo, la respiración mitocondrial.

15

20

25

El contenido total corporal de magnesio en los adultos es aproximadamente de 2000 mEq ó 24 g. Aproximadamente un 60 % del magnesio corporal total se localiza en los huesos y el resto está en los tejidos blandos. La concentración en suero del magnesio oscila típicamente de 1,8 - 2,5 mEq/litro. Aproximadamente, un tercio del mismo está unido a la proteína. La fracción libre (es decir no unida) del magnesio se considera como el componente activo.

30

El magnesio se absorbe ante todo en el intestino delgado a una velocidad que depende de la ingesta dietética, en individuos sanos. La absorción tiene lugar ante todo en el yeyuno y el íleon mediante la difusión iónica (pasiva) y unas bajas concentraciones de luminal, a través de procesos de transporte activo. El colon sigmoideo tiene también alguna capacidad para la absorción de magnesio. Una ingesta mínima diaria de 0,3 mEq/kg de peso corporal, ha sido sugerida para prevenir la deficiencia. Los bebés y los niños tienden a tener un mayor requerimiento diario que los adultos.

35

El riñón es el órgano excretor principal del Mg absorbido. La excreción media de Mg en la orina por día varía normalmente entre 2 y 5 mmoles.

40

La deficiencia en magnesio y la hipomagnesemia son a menudo asintomáticas. Sin embargo, la hipomagnesemia sintomática severa puede manifestarse clínicamente como una tetania y convulsiones generalizadas. Las primeras manifestaciones pueden incluir calambres musculares, náuseas, vómitos y letargia.

45

50

55

Aunque no se ha efectuado ningún estudio acerca de la incidencia actual de la hipomagnesemia clasificada por grupos de edad, los recién nacidos, en particular los bebés prematuros, están más predispuestos a desarrollar la hipomagnesemia. Como cuestión de hecho, la prematuridad se considera como uno de los factores de riesgo principales para la deficiencia de Mg (Caddell J.L. "Magnesium in perinatal care and infant health" ("El magnesio en el cuidado perinatal y la salud de los bebés"). Magnes Trace Elem ("Trazas del Elemento Magnesio"), 1991; 10 (2-4): 229-50). Las razones clave para el alto riesgo de deficiencia en bebés prematuros son los limitados depósitos de magnesio en el cuerpo y el alto requerimiento para los huesos y el magnesio intracelular inherente a la acelerada velocidad de crecimiento de dichos bebés. La deficiencia de magnesio puede aumentar el riesgo de severas complicaciones neonatales como por ejemplo la hemorragia intracraneal, la leucomalacia periventricular o la displasia broncopulmonar, así como también secuelas a lo largo de toda la vida, como por ejemplo, la parálisis cerebral y la enfermedad pulmonar crónica (Caddell JL, Graziani LJ, Wiswell TE et al. "The possible role of magnesium in protection of premature infants from neurological syndromes and visual impairments and a review of survival of magnesium exposed premature infants" ("El posible papel del magnesio en la protección de los bebés prematuros de los síndromes neurológicos y discapacidad visual y una revisión de la supervivencia de los bebés prematuros tratados con magnesio"). Magnes Res 1999;12(3):201-16; Caddell J.L. "Evidence for magnesium deficiency in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia" ("Evidencia de la deficiencia de magnesio en la patogénesis de la displasia broncopulmonar") (BPD). Magnes Res 1996; 9(3):205-16).

60

Existe por lo tanto, la necesidad de una composición nutricional para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio, en particular en bebés y niños pequeños, de preferencia en bebés que han nacido prematuramente o con un bajo peso de nacimiento (LBW) ó que han experimentado un retraso en el crecimiento intra-uterino (IUGR), ó que padecen de mala absorción, diarrea crónica, síndrome del intestino corto y/o de retraso en el crecimiento debido a una mala nutrición, como por ejemplo, una nutrición intra-uterina subóptima, y/o enfermedad.

65

- 5 Los oligosacáridos, especialmente los fructo-oligosacáridos y la inulina, son conocidos por promover la absorción del magnesio y/o la retención, de manera dependiente de la dosis. Las dosis medias a altas, equivalentes a más de un 5% de ingesta dietética de oligosacáridos son a menudo necesarias para observar un efecto positivo. Sin embargo, la tolerancia gastrointestinal de estas dosis medias a altas es a menudo pobre, y conducen a una distensión abdominal y dolor, flatulencia y en algunos casos diarrea. Por lo tanto, existe una necesidad de una nueva composición nutritiva que pueda promover la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio, a bajas dosis, compatibles con la ausencia de síntomas gastrointestinales y con una buena tolerancia digestiva. Más generalmente, existe la necesidad de esta intervención nutritiva en los mamíferos jóvenes, en particular bebés y niños, de preferencia niños, pero también en animales de compañía jóvenes.
- 10 Existe una necesidad para dicha intervención que induce el mantenimiento de un adecuado nivel de magnesio, mediante la promoción de la absorción y/o de la retención, en humanos y animales, especialmente en jóvenes mamíferos.
- 15 **Resumen de la invención**
- Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que la administración de una mezcla de oligosacáridos específicos, opcionalmente en combinación con por lo menos un ácido graso poliinsaturado de cadena larga (LC-PUFA) y/o por lo menos un probiótico, es particularmente efectiva en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.
- 20 En consecuencia, la presente invención proporciona una composición que contiene una mezcla de oligosacáridos, conteniendo dicha mezcla por lo menos un oligosacárido N-acetilado, por lo menos un oligosacáridos sialilado y por lo menos un oligosacáridos neutro, en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.
- 25 La composición de acuerdo con la invención es de preferencia una composición nutricional.
- Esta composición contiene además de preferencia, por lo menos una LC-PUFA.
- 30 La composición contiene además de preferencia por lo menos un probiótico.
- La LC-PUFA, cuando está presente, se escoge de preferencia entre el ácido araquidónico (ARA) y el ácido docosahexanoico(DHA), y con mayor preferencia la LC-PUFA es una mezcla de ARA y DHA.
- 35 El probiótico, cuando está presente, se escoge de preferencia entre cepas bacterianas probióticas, con mayor preferencia el probiótico es un *lactobacillus* o un *bifidobacterium*. En una versión preferida, el probiótico es en *Lactobacillus rhamnosus*, el *Bifidobacterium lactis* y el *Lactobacillus reuteri*. En una versión incluso más preferida, el probiótico es el *Bifidobacterium lactis*.
- 40 El oligosacárido neutro se escoge de preferencia entre los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS), de preferencia los GOS.
- En una versión, la mezcla de oligosacáridos puede derivarse de la leche animal, como por ejemplo uno o más, de la leche de vaca, de cabra, de oveja, o de búfala. Por ejemplo, se obtuvo por fraccionamiento de la leche de vaca y posterior tratamiento enzimático.
- 45 En una segunda versión, la mezcla de oligosacáridos puede prepararse mezclando medios enzimáticos, químico-enzimáticos, y/o químicos.
- 50 En una tercera versión, la mezcla de oligosacáridos puede prepararse empleando técnicas de fermentación de levaduras y/o bacteriana. Por ejemplo, enzimas adecuadas para expresar células de levaduras y/o bacterianas, como por ejemplo, las glicosidasas y/o las glicosiltransferasas después de una modificación genética o no podrían emplearse para esta finalidad.
- 55 La composición de la invención se emplea de preferencia para bebés nacidos prematuramente o con un peso de nacimiento bajo (LBW) ó que tuvieron un retraso en el crecimiento intrauterino (IUGR), ó que sufren de mala absorción, diarrea crónica, síndrome del intestino corto y/o de un retraso en el crecimiento debido a una mala nutrición, como por ejemplo una nutrición intra-uterina subóptima, y/o enfermedad.
- 60 **Descripción detallada de la invención**
- Como se emplean en la presente, los siguientes términos tienen los siguientes significados.
- 65 El término "niño" significa un humano entre las etapas del nacimiento y la pubertad. Un adulto es un humano más viejo que un niño.

El término "bebé" significa un niño por debajo de los 12 meses.

El término "bebé nacido antes de término" (o "bebé prematuro"), significa un bebé nacido por lo menos antes de las 37 semanas de gestación. El término "bebé con un peso de nacimiento bajo" significa un bebé que tiene un peso al nacer inferior a los 2.500 g.

El término "niño pequeño" significa un niño con una edad entre uno y tres años.

El término "fórmula para bebés" significa un alimento previsto para el uso particular nutricional de los bebés durante los primeros cuatro a seis meses de vida, y satisfaciendo por sí misma las necesidades nutritivas de esta categoría de personas (artículo 1.2 de la European Commission Directive" ("Comisión Directiva Europea") 91/321/EEC de 14 de mayo de 1991 sobre las fórmulas para bebés y fórmulas de seguimiento).

El término "fórmula para bebés prematuros" significa una fórmula para bebés prevista para bebés prematuros.

El término "reforzante de la leche humana" significa un suplemento empleado para aumentar las calorías, las proteínas, los minerales, y las vitaminas de la leche del pecho para alimentar bebés prematuros o bebés con un bajo peso de nacimiento.

El término "fórmula de seguimiento" significa un alimento previsto para el empleo o nutricional particular para bebés con una edad por encima de los cuatro meses y constituyendo el principal elemento líquido en la dieta progresivamente diversificada de esta categoría de personas.

El término "fórmula de partida para bebés" significa un alimento previsto para el empleo nutricional particular de bebés desde el primer mes hasta los seis meses de vida.

El término "alimento para bebés" significa un alimento previsto para el empleo nutricional particular de bebés durante los primeros años de vida.

El término "composición cereal para bebés" significa un alimento previsto para el empleo nutricional particular empleado para bebés durante los primeros años de vida.

El término "leche de crecimiento" significa una bebida a base de leche adaptada para las necesidades nutricionales específicas de los niños pequeños.

El término "período de destete" significa el periodo durante el cual la leche de la madre o la fórmula para bebés es parcialmente o totalmente sustituida por otro alimento en la dieta de un bebé. La expresión "promoción de la absorción del magnesio y/o retención del magnesio" significa el soporte de la absorción del magnesio, o el soporte de la retención del magnesio, o ambos.

El término "composición nutricional" significa una composición que alimenta a un individuo. Esta composición nutricional es habitualmente para tomar por vía oral, por vía intragástrica o por vía intravenosa, y habitualmente incluye una fuente de lípidos o de grasas, y una fuente de proteínas.

El término "mezcla sintética" significa una mezcla obtenida por medios químicos y/o biológicos, la cual puede ser químicamente idéntica a la mezcla que se encuentra en la naturaleza en las leches de los mamíferos.

El término, "composición hipoalergénica" significa una composición que es improbable que cause reacciones alérgicas.

El término "probiótico" significa preparaciones de células microbianas o componentes de células microbianas o metabolitos de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o el bienestar del anfitrión (Salminen S, Ouwehand A, Benno Y. et al. "Probiotics: how should they be defined" ("Probióticos: como deben ser definidos") Trends Food Sci. Technol. 1999: 10 107-10).

El término "oligosacárido" significa un hidrato de carbono que tiene un grado de polimerización (DP) que oscila de 2 a 20 inclusive, pero que no incluye la lactosa.

El término "oligosacárido neutro" significa un oligosacárido que no tiene ninguna carga ni ningún radical N-acetilo.

El término "oligosacárido sialilado" significa un oligosacárido que tiene un ácido siálico (como por ejemplo el ácido N-acetilneuramínico y/o un radical ácido N-glicolilneuramínico).

El término "oligosacárido N-acetilado" significa un oligosacárido que tiene por lo menos una hexosa que lleva un radical N-acetilo.

Todos los tantos por ciento están expresados en peso, a no ser que se precise otra cosa.

En un aspecto, la invención proporciona una composición que comprende una mezcla de oligosacáridos, la cual mezcla contiene por lo menos un oligosacárido N-acetilado seleccionado del grupo formado por GalNAc $\alpha$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (=3'Gal-NAC-lac = N-acetil-galactosaminil-lactosa) y Gal $\beta$  1,6GalNAc $\alpha$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 6'Gal-3GalNAc-lac = galactosil-N-acetil- galactosaminil-lactosa), Gal $\beta$  1,4GlcNAc $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (lacto-N-neotetraosa ó LNnT) y Gal $\beta$  1,3GlcNAc $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (lacto-N-tetraosa ó LNT), por lo menos un oligosacárido sialilado seleccionado del grupo formado por NeuAc $\alpha$  2,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3'-sialyllactosa) y NeuAc $\alpha$  2,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6'-sialyllactosa), y por lo menos un oligosacárido neutro seleccionado del grupo formado por Gal $\beta$  1,6Gal (=  $\beta$  1,6-digalactosido); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6'Gal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Glc; Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Glc; Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3'Gal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6',6-diGal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 6',3-diGal-lac); Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 3',6-diGal-lac); Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3',3-diGal-lac); Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc (= 4' Gal-lac); y Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc (= 4',4-diGal-lac); y Fuca 1,2Gal $\beta$  1,4Glc (= 2'fucosillactosa ó FL), para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.

De preferencia, la composición comprende además, por lo menos, una LC-PUFA.

De preferencia, la composición comprende además por lo menos un probiótico.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende:

- 0,25 – 20 % en peso, de preferencia 0,3 - 10 % en peso, con mayor preferencia 0,3 – 5 % en peso e incluso con mayor preferencia alrededor de un 0,5 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido N- acetilado,
- 0,5 – 30 % en peso, de preferencia 0,75 – 15 % en peso, con mayor preferencia 0,75-10 % en peso e incluso con más preferencia alrededor de un 1 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido sialilado, y
- 50 - 99,3 % en peso, de preferencia 20 – 80 % en peso, con mayor preferencia 10 – 50 % en peso e incluso con más preferencia alrededor de un 50 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido neutro,

para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.

De acuerdo con una versión preferida, la mezcla de oligosacáridos está presente en una cantidad de un 0,5 – 50 %, con mayor preferencia un 1 - 20 %, todavía con mayor preferencia un 2 - 8 % , con respecto al peso total de la composición.

Los compuestos oligosacáridos se definen mediante sus estructuras, en donde GalNAc es la N- acetil-galactosamina, la GlcNAc es la N- acetil glucosamina, Gal es la galactosa, NeuAc es el ácido N- acetil neuramínico, Fuc es fucosa y Glc es glucosa.

La mezcla de oligosacáridos de la composición de acuerdo con la invención puede ser la única fuente de oligosacáridos de la composición.

En una primera versión, el oligosacárido neutral se escoge de preferencia entre FOS y GOS, de preferencia GOS, como por ejemplo los que se han citado más arriba.

En una segunda versión, independientemente o no de la primera versión, el oligosacárido neutro es de preferencia la 2'- fucosillactosa (FL). En este caso, la FL está de preferencia incluida en el grupo de los oligosacáridos neutros en la mezcla de oligosacáridos durante su fabricación.

El oligosacárido neutro puede prepararse como una mezcla, adquiriendo y mezclando los componentes individuales. Por ejemplo los galacto-oligosacáridos sintetizados como por ejemplo los Gal $\beta$  1,6Gal, Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc, Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Glc, Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Glc, Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc, Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc, Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc, Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc, Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc and Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc y mezclas de los mismos están comercialmente disponibles bajo los nombres registrados de Vivinal® de la firma Friesland Campina, Holanda, y Elix'or®. Otros suministradores de oligosacáridos son las firmas Dextra Laboratories, Sigma-Aldrich Chemie GmbH y Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. Alternativamente pueden emplearse glicosiltransferasas y/o glicosidasas específicas, como por ejemplo las galactosiltransferasas y/o las fucosiltransferasas y/o las galactosidasas y/o las fucosidasas, para producir galacto-oligosacáridos y/o oligosacáridos fucosilados.

La fucosillactosa es un oligosacárido fucosilado (es decir un oligosacárido que tiene un radical fucosa). Este oligosacárido fucosilado puede aislarse mediante cromatografía o por tecnología de filtración a partir de una fuente natural, como por ejemplo, las leches animales. Alternativamente, puede producirse por medios biotecnológicos empleando fucosiltransferasas específicas y/o fucosidasa, bien sea a través del empleo de la tecnología de la

5 fermentación basada en enzimas (enzimas recombinantes o naturales) o bien sea mediante tecnología de la fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden o bien expresar sus enzimas y sustratos naturales o bien pueden ser producidos por ingeniería genética para producir los respectivos sustratos y enzimas. Pueden emplearse simples cultivos microbianos y/o cultivos mezclados. La formación del oligosacárido fucosilado puede ser iniciada mediante sustratos aceptores a partir de cualquier grado de polimerización (DP), a partir de DP = 1 en adelante. Alternativamente los oligosacáridos fucosilados pueden ser producidos mediante síntesis química a partir de la lactosa y fucosa libre. Los oligosacáridos fucosilados pueden también adquirirse por ejemplo en las firmas Kyowa, Hakko, Kogyo, de Japón.

10 De acuerdo con la invención, el oligosacárido sialilado puede seleccionarse del grupo formado por la 3'-sialil-lactosa y la 6'-sialillactosa. De preferencia, en el oligosacárido sialilado comprende ambos 3'-sialillactosa y la 6'-sialillactosa. En esta versión, el ratio entre la 3'-sialillactosa y la 6'-sialillactosa está de preferencia en el margen entre 5: 1 y 1: 2.

15 Las formas 3' y 6' de la sialillactosa pueden ser obtenidas mediante la adición a la composición de una fuente natural como por ejemplo la leche animal, o pueden ser aisladas mediante tecnología cromatográfica o de filtración, de dicha fuente natural. Alternativamente, pueden obtenerse por medios biotecnológicos empleando sialiltransferasas o sialidasas, neuraminidasas, mediante la tecnología de la fermentación basada en una enzima (enzimas recombinantes o naturales), mediante síntesis química o mediante la tecnología de fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden o bien expresar sus enzimas y sustratos naturales o bien pueden transformarse por ingeniería genética para producir los respectivos sustratos y enzimas. Pueden emplearse simples cultivos microbianos o cultivos mezclados. La formación de sialil-oligosacáridos puede iniciarse mediante sustratos a sectores a partir de cualquier grado de polimerización (DP), a partir de DP = 1 en adelante. Alternativamente, las sialillactosas pueden ser producidas mediante síntesis química a partir de la lactosa y el ácido N'- acetilneuramínico libre (ácido siálico) las sialillactosas pueden también adquirirse comercialmente por ejemplo de la firma Kyowa Hakko Kogyo de Japón.

20 Los oligosacáridos N-acetilados pueden ser obtenidos mediante la adición a la composición de una fuente natural como por ejemplo la leche animal. Alternativamente pueden ser preparados mediante la acción de la glucosaminidasa y/o la galactoaminidasa sobre la N-acetilglucosa y/o la N-acetilgalactosa. Igualmente, pueden emplearse para este propósito las N-acetil-galactosil transferasas y/o las N-acetil-glicosil transferasas. Los oligosacáridos N-acetilados pueden también ser producidos mediante el empleo de la tecnología de la fermentación empleando las respectivas enzimas (recombinante o natural) y/o la fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden o bien expresar sus enzimas y sustratos naturales o bien pueden ser transformados por ingeniería genética para producir los respectivos sustratos y enzimas. Pueden emplearse simples cultivos microbianos o cultivos mezclados. La formación del oligosacárido N- acetilado puede ser iniciada mediante sustratos aceptores a partir de cualquier grado de polimerización (DP), a partir de DP = 1 en adelante. Otra opción es la conversión química de las ceto-hexosas (por ejemplo, la fructosa), bien sea libre o bien sea unida, a un oligosacáridos (por ejemplo la lactulosa) en N-acetilhexosamina o una N-acetilhexosamina conteniendo oligosacárido como se describe en Wrodnigg, T.M.; Stutz, A.E. (1999) Angew. Chem. Int. Ed. 38: 827-828.

30 La LNnT y la LNT pueden ser sintetizadas mediante la transferencia enzimática de unidades de sacarido a partir de grupos dadores a grupos aceptores empleando las glicosilhidrolasas y/o las glicosiltransferasas como está descrito por ejemplo en la patente US nº 5. 288. 637 y la WO 96/10086. Alternativamente, la LNnT puede ser preparada mediante la conversión química de las ceto-hexosas (por ejemplo la fructosa), bien sea libre o bien sea unida a un oligosacárido (por ejemplo la lactulosa) en la N-acetilhexosamina o un oligosacárido conteniendo una N-acetilhexosamina, como está descrito en Wrodnigg, T.M.; Stutz A.E. (1999) Angew. Chem. Int. Ed. 38: 827-828. La N-acetil-lactosamina producida de esta manera puede a continuación ser transferida a lactosa como grupo aceptor.

35 De preferencia, se selecciona el oligosacárido

50 N-acetilado del grupo que comprende la lacto-N-neotetraosa (ó LNnT) y la lacto-N-tetraosa (ó LNT). De preferencia, la LNnT y/o la LNT están incluidas en el grupo de los oligosacáridos sialilados en la mezcla de oligosacáridos durante su fabricación.

55 La cepa bacteriana probiótica opcionalmente presente en la composición de la invención puede ser seleccionada de cualquier cepa que satisfaga la definición de un probiótico y tenga una aceptable vida útil para la composición a la cual debe ser incorporada. Por ejemplo, si la composición se incorpora a una fórmula para bebés, dicha fórmula para bebés es necesario que permanezca estable y efectiva hasta los 12 meses. La cepa bacteriana probiótica es de preferencia, un *Lactobacillus* o un *bifidobacterium*, y con mayor preferencia un *bifidobacterium*. Ejemplos de *Lactobacillus* preferidos son el *Lactobacillus rhamnosus*, el *Lactobacillus paracasei* y el *Lactobacillus reuteri*. Las cepas particularmente preferidas son el *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103, el *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, y el *Lactobacillus paracasei* CNCM I-2166. Incluso es más preferido el probiótico *Lactobacillus rhamnosus*, término que incluye el *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 y el *Lactobacillus rhamnosus* CG-MCC 1.3724.

60 El *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 puede adquirirse en la firma Valio Oy de Finlandia bajo el nombre registrado de LGG.

65

Ejemplos de especies preferidas de *Bifidobacterium* incluyen el *Bifidobacterium lactis*, el *Bifidobacterium longum*, el *Bifidobacterium breve* y el *Bifidobacterium infantis*. Las cepas particularmente preferidas son el *Bifidobacterium lactis* CNCM I-3446 que puede adquirirse entre otros en la firma Christian Hansen de Dinamarca bajo el nombre registrado de Bb 12, el *Bifidobacterium longum* ATCC BAA- 999 que puede adquirirse en la firma Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón bajo el nombre registrado de BB536, la cepa del *Bifidobacterium breve* que puede adquirirse en la firma Danisco bajo el nombre registrado de Bb-03, la cepa del *Bifidobacterium breve* que puede adquirirse en la firma Morinaga bajo el nombre registrado de M-16V, la cepa del *Bifidobacterium infantis* que puede adquirirse en la firma Procter & Gamble Co. bajo el nombre registrado de Bifantis y la cepa del *Bifidobacterium breve* que puede adquirirse en el Institut Rosell (firma Lallemand) bajo el nombre registrado de R0070.

De acuerdo con la invención, el probiótico opcional se escoge entre cepas bacterianas probióticas, de preferencia, el probiótico es un *Lactobacillus* o un *bifidobacterium*, con más preferencia el probiótico es el *Lactobacillus rhamnosus*, el *Lactobacillus reuteri* y el *Bifidobacterium lactis*, e incluso con mayor preferencia el probiótico es el *Bifidobacterium lactis*.

El probiótico puede estar presente en la composición en un amplio margen de porcentajes con la condición de que el probiótico produzca el efecto descrito. Sin embargo, de preferencia, el probiótico está presente en la composición en una cantidad equivalente de  $10^2$  a  $10^{12}$  cfu (= unidades formadoras de colonias) de una cepa bacteriana probiótica, con mayor preferencia entre  $10^6$  y  $10^9$  cfu, por cada gramo de composición. Esta expresión incluye las posibilidades de que las bacterias estén vivas, inactivadas o muertas, o incluso estén presentes como fragmentos, como por ejemplo de ADN, materiales de la pared celular, materiales intracelulares o metabolitos de la bacteria. En otras palabras, la cantidad de bacterias que la composición contiene se expresa en términos de la capacidad de formación de colonias, de qué cantidad de bacterias si todas las bacterias estaban vivas, independientemente de si están de hecho vivas, inactivadas o muertas, fragmentadas, o una mezcla de cualquiera de todos estos estados.

La composición contiene opcionalmente por lo menos una LC-PUFA, la cual es habitualmente una n-3 ó una n-6 LC-PUFA. La n-3 LC-PUFA puede ser un ácido graso de 20 ó 22 átomos de carbono. El n-3 LC-PUFA de 20 ó 22 átomos de carbono está presente de preferencia en una cantidad de por lo menos un 0,1 % en peso de todos los ácidos grasos en la composición. De preferencia, el n-3 LC-PUFA es el ácido docosahexanoico (DHA, C22:6, n-3). El n-6 LC-PUFA puede ser un ácido graso n-6 de 20 ó 22 átomos de carbono. El n-6 LC-PUFA de 20 ó 22 átomos de carbono está de preferencia presente en una cantidad de por lo menos un 0,1 % en peso de todos los ácidos grasos en la composición. De preferencia, el n-6 LC-PUFA es el ácido araquidónico (ARA C20: 4, n-6). La fuente de LC -PUFA puede ser, por ejemplo los lípidos del huevo, el aceite de hongos, el aceite de pescado con un bajo EPA ó el aceite de algas. El LC-PUFA opcional de la composición de la invención, puede ser proporcionado en pequeñas cantidades de aceites que contienen altas cantidades de ácido araquidónico y ácido docosahexanoico preformados, como por ejemplo, los aceites de pescado o los aceites microbianos.

La composición de acuerdo con la invención es de preferencia una composición nutricional, con más preferencia una composición nutricional sintética. En este caso puede ser una fórmula para bebés prematuros, una leche humana reforzante, una fórmula de partida para bebés, una fórmula de seguimiento, una fórmula para alimentar bebés, una fórmula de cereales para bebés, una leche de crecimiento, un producto alimenticio médico para nutrición clínica, un suplemento, típicamente para ser usado durante la estancia en el hospital y/o para ser usado después de la salida hospitalaria. Un suplemento puede ser para un bebé prematuro o para un niño o para un adulto. Dicha composición es de preferencia un producto para la alimentación de prematuros como por ejemplo una fórmula para bebés prematuros, un reforzante de la leche humana, o un suplemento para bebés prematuros. De acuerdo con una versión, la composición es de preferencia una fórmula para bebés prematuros, un reforzante de la leche humana, o un suplemento. Esta composición de acuerdo con la invención, puede ser también productos para niños o adultos como por ejemplo el yogur o un alimento médico, así como también un alimento para animales domésticos.

De acuerdo con una versión particularmente preferida, la composición de acuerdo con la invención, es para emplear en bebés y niños pequeños, los cuales nacieron prematuramente o con un bajo peso de nacimiento (LBW), ó han experimentado un crecimiento intrauterino retardado (IUGR) ó padecen de malaabsorción, diarrea crónica, síndrome del intestino corto y/o retraso de crecimiento debido a una mala nutrición, como por ejemplo una nutrición intra-uterina subóptima, y/o enfermedad.

La composición de acuerdo con la invención, puede ser para emplear antes y/o durante y/o después de un periodo de lactancia.

La invención incluye también el empleo de una composición de acuerdo con la invención, como por ejemplo un agente nutricional sintético para la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.

Todas las utilizaciones descritas más arriba están particularmente destinadas a los bebés y niños pequeños, de preferencia bebés, en el caso de los humanos. Todas estas utilizaciones pueden también destinarse a los animales de compañía jóvenes. Las composiciones y empleos descritos en la presente invención son particularmente adecuados para los bebés y los niños pequeños, de preferencia los bebés, aquellos que nacieron prematuros o con un bajo peso de nacimiento (LBW) ó experimentaron un retraso en el crecimiento intra-uterino (IUGR), ó sufren de

mala absorción, diarrea crónica, síndrome del intestino corto y/o retraso del crecimiento debido a una mala nutrición, como por ejemplo una nutrición intra-uterina subóptima, y/o enfermedad.

5 Sin pretender estar unidos a la teoría, los inventores creen que la eficacia de la combinación de la mezcla de oligosacáridos en la composición descrita más arriba para la promoción de la absorción del magnesio y/o de la retención del magnesio, puede ser el resultado de la combinación sinérgica de los efectos moduladores de la inmunidad. Este es tanto más el caso cuando un probiótico y/o una LC-PUFA está(n) presente(s), debido a que la combinación sinérgica se dispara mediante la cepa bacteriana probiótica y/o la LC-PUFA, mediante su estimulación con la mezcla específica de oligosacáridos.

10 La mezcla de oligosacáridos, la LC-PUFA opcional y la cepa bacteriana probiótica opcional pueden ser administradas de una vez en la misma composición o pueden ser administradas secuencialmente.

15 Si debe abordarse el grupo de bebés prematuros y de LBW, la composición es de preferencia una composición nutricional, por ejemplo consumida en forma líquida. Puede ser una fórmula nutricional completa como por ejemplo una fórmula para bebés (prematuros), un suplemento, un reforzante de la leche humana, una fórmula de seguimiento o una leche de crecimiento. Alternativamente, para el grupo de mamíferos jóvenes, la composición puede ser un alimento para animales de compañía.

20 La composición de acuerdo con la invención puede contener también una fuente de proteínas. No se cree que el tipo de proteína sea crítico para la presente invención, siempre que se cumplan las necesidades mínimas del contenido esencial de aminoácidos y esté asegurado un satisfactorio crecimiento. De esta forma, pueden emplearse las fuentes de proteína a base de suero de leche, de caseína y mezclas de los mismos, así como también las fuentes de proteína a base de soja. Por lo que se refiere a las proteínas del suero de leche, la fuente de proteínas puede estar basada en suero de leche ácido o suero de leche dulce o mezclas de los mismos y puede incluir alfa-lactalbúmina y beta-lactoglobulina en cualquier proporción que se desee. Las proteínas pueden estar por lo menos parcialmente hidrolizadas con el fin de potenciar la tolerancia oral a los alérgenos, especialmente los alérgenos de los alimentos. En este caso la composición es una composición hipoalérgica.

30 La composición de acuerdo con la presente invención puede contener también una fuente de hidratos de carbono en adición a la mezcla de oligosacáridos. Esto es particularmente preferible en el caso en que la composición de la invención es una fórmula para bebés. En este caso, cualquier fuente de hidratos de carbono que se encuentra convencionalmente en las fórmulas para bebés, como por ejemplo la lactosa, la sacarosa, la maltodextrina, el almidón, y mezclas de los mismos, puede ser empleada aunque la fuente preferida de los hidratos de carbono sea la lactosa. En cualquier caso, la mezcla de oligosacáridos es de preferencia la única fuente de prebiótico en la composición de acuerdo con la invención.

40 La composición de acuerdo con la presente invención puede también contener una fuente de lípidos incluyendo o no el opcional LC-PUFA. Esto es particularmente importante si la composición nutricional de la invención es una fórmula para bebés. En este caso, la fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa que sea adecuada para emplear en las fórmulas para bebés. Las fuentes de grasa preferidas incluyen el oleico de palma, el aceite de girasol alto en oleico y el aceite de cártamo alto en oleico, opcionalmente enriquecido con por lo menos un LC-PUFA como por ejemplo el ARA y/o el DHA. Los ácidos grasos esenciales, ácido linoleico y el ácido  $\alpha$ -linoléico pueden también añadirse. En la composición, la fuente de grasa (incluyendo el LC-PUFA) tiene de preferencia un ratio de ácidos grasos n-6 a ácidos grasos n-3, de aproximadamente 1:2 hasta aproximadamente 10:1, de preferencia alrededor de 3:1 hasta aproximadamente 8:1.

50 La composición de la invención puede contener también vitaminas y minerales, en el bien entendido que sean esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Han sido establecidas las necesidades mínimas para ciertas vitaminas y minerales. Ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes opcionalmente presentes en la composición de la invención incluyen la vitamina A, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B6, la vitamina B12, la vitamina E, la vitamina K, la vitamina C, la vitamina D, el ácido fólico, el inositol, la niacina, la biotina, el ácido pantoténico, la colina, el calcio, el fósforo, el yodo, el hierro, el magnesio, el cobre, el zinc, el manganeso, el cloro, el potasio, el sodio, el selenio, el cromo, el molibdeno, la taurina, y la L-carnitina. Los minerales se añaden habitualmente en forma de sal. La presencia y las cantidades de los minerales específicos y de otras vitaminas variarán en función de la población a la que van destinados.

60 Si es necesario, la composición de la invención puede contener emulsionantes y estabilizantes, como por ejemplo, la soja, la lecitina, los ésteres mono y di-glicéridos del ácido cítrico y similares.

La composición de la invención puede contener también otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso, como por ejemplo, la lactoferrina, los nucleótidos, los nucleósidos, los gangliósidos, las poliaminas, y similares.

65 La preparación de la composición de acuerdo con la invención, se describirá ahora por medio de un ejemplo.



## ES 2 546 262 T3

La fórmula puede prepararse de cualquier manera adecuada. Por ejemplo, puede prepararse mezclando juntamente una fuente de proteínas, una fuente de hidratos de carbono (diferente de la mezcla de oligosacáridos) y una fuente de grasas incluyendo la LC-PUFA opcional en proporciones adecuadas. Si se emplean, los emulsionantes pueden incluirse en este momento. Las vitaminas y minerales pueden añadirse en este momento pero habitualmente se añaden más tarde para evitar la degradación térmica. Cualquier vitamina lipofílica, emulsionantes y similares, pueden ser disueltos en la fuente de grasas antes de la mezcla. El agua, de preferencia, agua que ha sido sometida a ósmosis inversa, puede a continuación ser mezclada para formar una mezcla líquida. La temperatura del agua está convenientemente en el margen entre aproximadamente 50 °C y aproximadamente 80 °C para ayudar a dispersar los ingredientes. Pueden emplearse licuefactores comercialmente disponibles para formar la mezcla líquida. La mezcla de oligosacáridos se añadirá a esta etapa si el producto final tiene forma líquida. Si el producto final es un polvo, los oligosacáridos pueden igualmente ser añadidos en esta etapa si se desea. La mezcla líquida se homogeneiza a continuación, por ejemplo, en dos etapas.

La mezcla líquida puede ser tratada térmicamente a continuación para reducir la carga bacteriana, calentando rápidamente la mezcla líquida a una temperatura en el margen entre aproximadamente 80 °C y aproximadamente 150 °C durante un tiempo entre aproximadamente 5 segundos y aproximadamente 5 minutos, por ejemplo. Esto puede ser efectuado por medio de una inyección de vapor, por ejemplo un autoclave o un intercambiador de calor, por ejemplo una placa intercambiadora de calor.

A continuación, la mezcla líquida puede enfriarse entre aproximadamente 60 °C y aproximadamente 85 °C, por ejemplo, mediante enfriamiento flash. La mezcla líquida puede a continuación homogeneizarse de nuevo, por ejemplo, en dos etapas entre aproximadamente 10 MPa y aproximadamente 30 MPa en la primera etapa y entre aproximadamente 2 Mpa y aproximadamente 10 MPa en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada puede a continuación enfriarse para añadir cualquier componente sensible al calor, como por ejemplo, vitaminas y minerales. El pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada, se ajustan convenientemente en este momento.

La mezcla homogeneizada se transfiere a un aparato convenientemente seco, como por ejemplo, un secador por pulverización o un secador por congelación y se convierte en polvo. El polvo debe tener un contenido en humedad inferior a aproximadamente un 5 % en peso. La mezcla de oligosacáridos puede ser añadida en esta etapa mediante mezclado en seco con la(s) cepa(s) bacteriana(s) probiótica(s) opcional(es), o mediante la mezcla de las mismas en forma de jarabe de cristales, con la(s) cepa(s) bacteriana(s) probiótica(s) opcional(es), y secado por pulverización, (o secado por congelación).

Si se prefiere una composición líquida, la mezcla homogeneizada puede ser esterilizada a continuación asépticamente y envasada en envases adecuados o puede ser envasada en primer lugar en recipientes y a continuación tratada en autoclave.

En otra versión, la composición de la invención puede ser un suplemento en una cantidad suficiente para lograr el efecto deseado en un individuo. Esta forma de administración es habitualmente más adecuada para bebés prematuros o bebés LBW ó IUGR, niños mayores y adultos.

La cantidad de mezcla de oligosacáridos, LC-PUFA opcional y cepa bacteriana probiótica opcional, que debe incluirse en el suplemento, se seleccionará de acuerdo con la manera en la cual se deba administrar el suplemento.

El suplemento puede estar, por ejemplo, en forma de polvo, comprimidos, cápsulas, pastillas, o un líquido. El suplemento puede contener además hidrocoloides protectores (por ejemplo, gomas, proteínas, almidones modificados), aglutinantes, agentes/materiales formadores de película, agentes encapsuladores, materiales de pared/cáscara, compuestos de matriz, revestimientos, emulsionantes, agentes tensioactivos, agentes solubilizantes (aceites, grasas, ceras, lecitinas, etc.), adsorbentes, soportes, rellenos, co-compuestos, agentes dispersantes, agentes humectantes, auxiliares de proceso (disolventes), agentes de flujo, agentes para enmascarar el sabor, agentes de ponderación, agentes gelificantes y agentes formadores de gel. El suplemento puede contener también aditivos y adyuvantes farmacéuticos convencionales, excipientes y diluyentes, incluyendo, pero sin limitar, agua, gelatina de cualquier origen, gomas vegetales, lignin-sulfonato, talco, azúcares, almidón, goma arábiga, aceites vegetales, polialquilen glicoles, agentes saborizantes, conservantes, estabilizantes, agentes emulsionantes, tampones, lubricantes, colorantes, agentes humectantes, rellenos, y similares.

El suplemento puede añadirse a un producto aceptable por el consumidor (que es un humano o un animal), como por ejemplo, un portador o un soporte comestible, respectivamente. Ejemplos de dichos portadores o soportes son una composición farmacéutica, o un alimento, o un pienso para animales domésticos. Ejemplos no limitativos para dichas composiciones son la leche, el yogur, la cuajada, el queso, las leches fermentadas, las leches a base de productos fermentados, productos a base de cereales fermentados, polvos a base de leche, leche humana, fórmulas para prematuros, fórmulas para bebés, suplementos orales, y alimentación por sonda.

Además, el suplemento puede contener un material de soporte orgánico o inorgánico adecuado para la administración enteral o parenteral, así como también, vitaminas, minerales, trazas de elementos, y otros

m micronutrientes de acuerdo con las recomendaciones de los organismos gubernamentales como por ejemplo la USRDA.

5 Las ventajas, naturaleza, y varias características adicionales de la invención, aparecerán más claramente al considerar el experimento ilustrativo que ahora va a describirse en detalle, en conexión con dibujos anexos. En los dibujos:

La figura 1 es un gráfico de barras que representa los resultados de los experimentos, en términos de la absorción del magnesio, (en %).

10 La figura 2 es un gráfico de barras que representa los resultados de los experimentos, en términos de la retención del magnesio (en %)

## EJEMPLO

15 Los experimentos se efectuaron, con respecto al efecto de la suplementación de una mezcla de oligosacáridos (permeato de suero desmineralizado, deslactosado, ó DDWP) la cual es una mezcla de oligosacáridos de leche de vaca (CMOS) enriquecida con galacto-oligosacáridos, con ratas de 7 semanas de edad.

### Metodología

20 1. Protocolo experimental

40 ratas macho (Wistar) de 7 semanas de edad, fueron adquiridas en la firma Charles River SA, Francia. Los animales fueron aclimatados a las condiciones de las instalaciones para animales, durante 6 días después de su llegada. Durante este tiempo, los animales se mantuvieron individualmente en jaulas estándar Macrolon y recibieron la dieta del grupo de control (ver tablas numero 1-3). Después del período de aclimatación, los animales se agruparon al azar en cuatro grupos de acuerdo con sus pesos corporales, y se transfirieron durante 7 días a las jaulas con el fondo hecho mitad de alambre, para adaptarlas al fondo de alambre empleado más tarde en las jaulas metabólicas. A partir de ese momento hasta el final del estudio, los animales recibieron las dietas experimentales de acuerdo al grupo al cual pertenecían (control, sinergia, control + y DDWP) (ver tablas 1 - 3). Durante los últimos 7 días del estudio, los animales se mantuvieron individualmente en jaulas metabólicas con el fin de recoger cuantitativamente muestras de orina y muestras fecales.

35 2. Tratamiento y dietas

Los ingredientes funcionales siguientes se emplearon en la elaboración de las dietas experimentales:

- CMOS (PTC Konolfingen, partida 24722): polvo secado por pulverización del permeado de suero de leche desmineralizado y delactosado (contenido total de oligosacáridos: 1,3 % sobre materia seca).
- 40 • Vivinal® GOS (Friesland Foods Domo, NL): jarabe de galacto-oligosacáridos (contenido total de oligosacáridos 58,1 % sobre materia seca).
- Synergy 1® (Beneo-Orafty, BE), mezcla en polvo 1 : 1 de inulina y fructo-oligosacárido (contenido total de oligosacáridos: 92 % sobre materia seca)

45 Se estudiaron los siguientes grupos dietéticos:

- Control. Alimentado con una dieta semi-sintética adaptada para el crecimiento y basada en AIN 93G. Se empleó como control para el grupo sinérgico.
- Sinergia. Alimentado con la dieta de control conteniendo un 10 % (p/p) "Sinergia 1®".
- 50 • Control +. Alimentado con la dieta de control suplementado con glucosa, galactosa y lactosa, así como Na, Ca, Mg, y P en concentraciones similares a las contribuidas por el ingrediente DDWP. Se empleó como control para el grupo DDWP.
- DDWP. Alimentado con la dieta de control conteniendo 21,7 % (p/p) de CMOS y 8,6 % (p/p) de Vivinal® GOS, representando una concentración de un 4 % (p/p) de oligosacáridos en la dieta final.

55 Los oligosacáridos DDWP se obtienen típicamente de acuerdo con las descripciones de las patentes WO2007/101675 ó WO 2007/090894 y contiene habitualmente una mezcla de aproximadamente un 30 % en peso de GalNAcα 1,3Galβ 1,4Glc y Galβ 1,6GalNAcα 1,3Galβ 1,4Glc; 50 % en peso de Galβ 1,6Galβ 1,4Glc y Galβ 1,3Galβ 1,4Glc; 20 % en peso de NeuAcα 2,3Galβ 1,4Glc y NeuAcα 2,6Galβ 1,4Glc.

60 La ingesta dietética se evaluó diariamente durante los últimos 14 días del experimento. Se recogieron cuantitativamente muestras de orina y heces desde el día 16 hasta el día 20.

65 Las composiciones de las dietas (con el mismo número de referencia que los correspondientes grupos de dieta) están dados en las siguientes tablas 1, 2 y 3.

Tabla 1: composición de las dietas (g/100 g de dieta)

|                                  | Control | Sinergia | Control + | DDWP   |
|----------------------------------|---------|----------|-----------|--------|
| Almidón de maíz                  | 26,5    | 24,0     | 25,0      | 14,9   |
| Caseinato                        | 10,0    | 10,0     | 10,0      | 10,0   |
| Sucrosa                          | 5,00    | 2,50     | 3,49      | 1,40   |
| Mezcla de grasas                 | 3,50    | 3,50     | 3,50      | 3,50   |
| Celulosa                         | 2,50    | 2,50     | 2,50      | 2,50   |
| Mezcla de minerales (AIN-93G-MX) | 1,75    | 1,75     | 1,75      | 1,75   |
| Mezcla de vitaminas (AIN- 93-VX) | 0, 500  | 0, 500   | 0, 500    | 0, 500 |
| L-cisteína                       | 0, 150  | 0, 150   | 0, 150    | 0, 150 |
| Bitartrato de colina             | 0, 125  | 0, 125   | 0, 125    | 0, 125 |
| Terc-butilhidroquinona           | 0,001   | 0,001    | 0,001     | 0,001  |
| Agua Millipore                   | 50,0    | 50,0     | 50,0      | 50,0   |
| Lactosa                          |         |          | 2,73      |        |
| Glucosa                          |         |          | 0,081     |        |
| Galactosa                        |         |          | 0,054     |        |
| Fosfato de calcio                |         |          | 0,062     |        |
| Oxido de magnesio                |         |          | 0,006     |        |
| Fosfato de K                     |         |          | 0,077     |        |
| Synergy1 ®                       |         | 5,00     |           |        |
| DDWP                             |         |          |           | 10,9   |
| Vivina®-GOS                      |         |          |           | 4,30   |
| Total (g)                        | 100     | 100      | 100       | 100    |

Tabla 2. Composición de la mezcla de grasas en las dietas (g/100 g de mezcla de grasas)

|                                   | Control | Sinergia | Control + | DDWP  |
|-----------------------------------|---------|----------|-----------|-------|
| Aceite de haba de soja            | 15, 32  | 15,32    | 15,32     | 15,32 |
| Aceite de girasol con alto oleico | 3,98    | 3,98     | 3,98      | 3,98  |
| Manteca de cacao                  | 34,36   | 34,36    | 34,36     | 34,36 |

Tabla 3. Concentración de minerales y macronutrientes en las dietas

|                            | Control | Sinergia | Control + | DDWP  |
|----------------------------|---------|----------|-----------|-------|
| Calcio (mg/kg)             | 5588    | 5495     | 5944      | 6167  |
| Magnesio (mg/kg)           | 573     | 553      | 662       | 685   |
| Zinc(mg/kg)                | 30,0    | 28,4     | 30,4      | 30,0  |
| Ratio Ca/P                 | 1,51    | 1,53     | 1,41      | 1,36  |
| Sodio (mg/kg)              | 3925    | 4157     | 4218      | 4539  |
| Hierro (mg/kg)             | 77,4    | 74,6     | 82,0      | 68,8  |
| Proteína (Nx6,25, g/100 g) | 16,6    | 17,00    | 16,60     | 17,60 |
| Grasa (g/100 g)            | 6,48    | 7,12     | 6,62      | 7,20  |

## 10 3. Parámetros del magnesio

La eficiencia de la absorción del magnesio (%) como se muestra en el gráfico de barras de la figura 1, para cada uno de los grupos de la dieta, se midió mediante análisis ICP-OES del balance de las concentraciones de minerales en la dieta y en las heces.

15 La retención del magnesio (%) como se muestra en el gráfico de barras de la figura 2, para cada uno de los grupos de la dieta, se midió mediante análisis ICP-OES del balance de las concentraciones de minerales en la dieta, en las heces y en la orina.

20 "Sinergia" es una mezcla de oligosacáridos conocida para aumentar la biodisponibilidad digestiva del magnesio y de otros minerales (Coudray C, Tressol JC, Gueux E et al. "Los efectos de los fructanos del tipo inulina de diferente longitud de cadena y el tipo de ramificación sobre la absorción intestinal y el balance del calcio y magnesio en ratas". Eur J Nutr 2003; 42 (2): 91-8; Lobo AR, Filho JM, Alvares EP et al. "Los efectos de la composición dietética de lípidos y fructanos del tipo inulina sobre la biodisponibilidad de los minerales en ratas en crecimiento". Nutrition 2009; 25 (2): 216-25). "Sinergia" debe compararse a "control" puesto que tienen una similar composición en minerales y otros nutrientes. La "Sinergia" es conocida como mejoradora de la absorción del magnesio y/o de la retención, de manera dependiente de la dosis.

5 La composición "control +" es similar a la dieta que contiene DDWP. Haciendo estas comparaciones entre cada grupo de similares composiciones, la figura 1 muestra que la absorción del magnesio mejora mediante las dietas de control ("control" y "control +"), con ambas "sinergia" y con la dieta conteniendo DDWP. La figura 2 muestra que las retenciones del magnesio no están afectadas significativamente por la "sinergia" pero mejoran con la dieta DDWP de acuerdo con la invención.

10 Estos resultados son tanto más interesantes cuanto los oligosacáridos DDWP figuran a dosis bajas (4 %) en la dieta, mientras que la sinergia figura más bien a dosis altas (10 %) en la dieta, cuya tolerancia digestiva se espera que sea baja, especialmente en la población de bebés.

De esta forma, las composiciones nutricionales de acuerdo con la invención, mostraron un efecto en la promoción de la absorción del magnesio y en la retención del magnesio a dosis bajas, esperando tener una buena tolerancia digestiva, especialmente en la población de bebés.

## REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende una mezcla de oligosacáridos, conteniendo dicha mezcla por lo menos un oligosacárido n-acetilado, por lo menos un oligosacárido sialilado, y por lo menos un oligosacárido neutro, de preferencia escogidos entre los fructooligosacáridos (FOS) y/o los galactooligosacáridos (GOS), con más preferencia, los GOS, para emplear en la promoción de la absorción del magnesio y/o la retención del magnesio.
2. Una composición de acuerdo con la precedente reivindicación, que comprende además por lo menos, un ácido graso poliinsaturado de cadena larga (LC-PUFA), de preferencia escogido entre el ácido araquidónico (ARA) y el ácido docosahexanoico (DHA), y con más preferencia, el LC-PUFA es una mezcla de ARA y DHA.
3. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, la cual comprende además por lo menos una cepa probiótica, escogida generalmente entre cepas probióticas bacterianas, siendo de preferencia el probiótico un *Lactobacillus* ó un *bifidobacterium*, con mayor preferencia el probiótico es el *Lactobacillus rhamnosus*, el *Bifidobacterium lactis* y el *Lactobacillus reuteri*, incluso con más preferencia el probiótico es el *Bifidobacterium lactis*.
4. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde dicha mezcla de oligosacáridos contiene por lo menos un oligosacárido N-acetilado seleccionado del grupo que comprende los GalNAc $\alpha$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3'GalNAc-lac = N-acetil-galactosaminil-lactosa), Gal $\beta$  1,6GalNAc $\alpha$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 6Gal-3GalNAc-lac = galactosil-N-acetil-galactosaminil-lactosa), Gal $\beta$  1,4GlcNAc $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (lacto-N-neotetraosa ó LNnT) y Gal $\beta$ ,1,3GlcNAc $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (lacto-N-tetraosa ó LNT), por lo menos un oligosacárido sialilado seleccionado del grupo que comprende los NeuAc $\alpha$  2,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3'-sialyllactose) y NeuAc $\alpha$  2,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6'-sialyllactose), y por lo menos un oligosacáridos neutro seleccionado del grupo formado por los Gal $\beta$  1,6Gal (=  $\beta$ 1,6-digalactosido); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6'Gal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Glc; Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Glc; Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3'Gal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 6',6-diGal-lac); Gal $\beta$  1,6Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 6',3-diGal-lac); Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$  1,4Glc (= 3',6-diGal-lac); Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,3Gal $\beta$  1,4Glc (= 3',3-diGal-lac); Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc (= 4' Gal-lac) y Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Gal $\beta$  1,4Glc (= 4',4-diGal-lac) ; y Fuca I ,2Gal $\beta$  1,4Glc (= 2' fucosillactosa ó FL).
5. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedents reivindicaciones, en donde la mezcla de oligosacáridos comprende:
  - 0,25- 20 % en peso, de preferencia 0,3-10 % en peso, con mayor preferencia 0,3-5 % en peso e incluso con mayor preferencia alrededor de un 0,5 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido N-acetilado,
  - 0,5-30 % en peso, de preferencia 0,75-15 % en peso, con mayor preferencia 0,75-10 % en peso e incluso con más preferencia alrededor de un 1 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido sialilado, y
  - 50-99,3 % en peso, de preferencia 20-80 % en peso, con mayor preferencia 10-50 % en peso e incluso con más preferencia alrededor de un 50 % en peso, con respecto al peso total de la mezcla de oligosacáridos, de por lo menos un oligosacárido neutro,
6. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde la mezcla de oligosacáridos está presente en una cantidad de un 0,5 – 50 %, con mayor preferencia un 1 – 20 %, incluso con mayor preferencia, un 2 – 8 %, con resoecto al peso total de la composición.
7. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el oligosacárido N-acetilado está seleccionado del grupo que comprende la lacto-N-tetraosa (ó LNnT) y la lacto-N-tetraosa (ó LNT).
8. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde el oligosacárido sialilado se selecciona del grupo formado por la 3'-sialillactosa y la 6'-sialillactosa, y de preferencia el oligosacárido sialilado comprende ambos 3'-sialillactosa y 6'-sialillactosa, oscilando el ratio entre la 3'-sialillactosa y la 6'-sialillactosa, de preferencia entre 5:1 y 1:2.
9. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones en donde el oligosacárido neutro es la 2'-fucosillactosa (ó FL).
10. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, en donde dicha composición es una fórmula para bebés prematuros, un reforzante de la leche humana, una fórmula de iniciación para los bebés, una fórmula de seguimiento, una fórmula de alimento para los bebés, una fórmula de cereales para bebés, una leche de crecimiento, un producto médico alimenticio para nutrición clínica o un suplemento, y de preferencia, dicha composición es una fórmula para bebés prematuros, un reforzante de la leche humana, o un suplemento.

- 5 11. Una composición de acuerdo con una cualquiera de las precedentes reivindicaciones, para emplear en bebés y niños, de preferencia bebés, nacidos prematuramente o con un peso de nacimiento bajo (LBW) ó que sufrieron un retraso en el crecimiento intrauterino (IUGR) ó padecieron de malaabsorción, diarrea crónica, síndrome del intestino corto, y/o de crecimiento retrasado debido a una malnutrición, como por ejemplo, una nutrición intrauterina subóptima, y/o enfermedad.

Fig.1

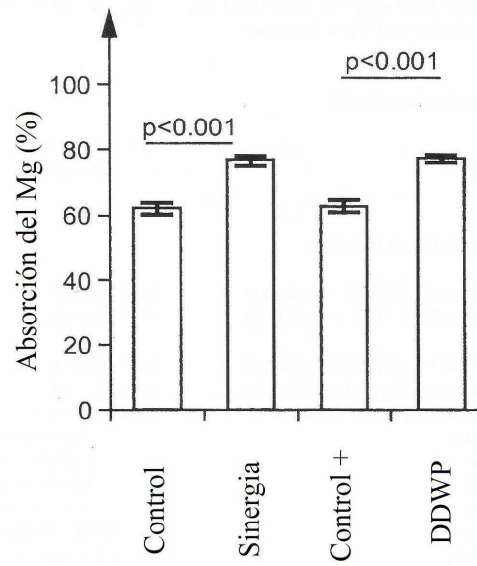


Fig.2

