

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 672 194**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/17** (2006.01)

**A23L 33/21** (2006.01)

**A23J 1/20** (2006.01)

**A23L 33/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2013** **PCT/US2013/067223**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.06.2014** **WO14099134**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2013** **E 13786870 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.04.2018** **EP 2934188**

54 Título: **Composiciones nutricionales a base de leche que contienen lactoferrina y sus usos**

30 Prioridad:

**18.12.2012 US 201213718695**

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

**13.06.2018**

73 Titular/es:

**MJN U.S. HOLDINGS LLC (100.0%)**  
**225 North Canal Street, 25th Floor**  
**Chicago, Illinois 60606, US**

72 Inventor/es:

**WITTKÉ, ANJA**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

ES 2 672 194 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Composiciones nutricionales a base de leche que contienen lactoferrina y sus usos

Campo técnico

La presente descripción se refiere a la reducción de la incidencia de enterocolitis necrosante en un bebé.

#### 5 Antecedentes de la técnica

La lactoferrina, una glicoproteína que se une al hierro, es uno de los principales agentes multifuncionales presentes en la leche humana. Tiene la capacidad de unir dos moléculas de hierro de manera reversible y puede facilitar la absorción de hierro dentro de los intestinos. Además, se ha demostrado que la lactoferrina es tanto bacteriostática como bactericida y ayuda a prevenir infecciones intestinales en humanos, especialmente en sujetos pediátricos.

10 Además, se ha informado que la lactoferrina humana protege contra bacterias Gramnegativas en una variedad de formas. Se cree que la lactoferrina humana ejerce una actividad bacteriostática al privar a los microorganismos del hierro que es necesario para el crecimiento. De este modo, secuestrando el hierro ambiental de los microorganismos patógenos, la lactoferrina humana inhibe eficazmente el crecimiento de esos microorganismos.

15 Varios estudios han examinado el efecto de la lactoferrina humana sobre diversas especies bacterianas. Por ejemplo, un estudio de 2001 demostró que la lactoferrina humana puede inhibir la adhesión de EPEC a las células HeLa. Nascimento de Arujao, A., et al., Lactoferrin and Free Secretory Component of Human Milk Inhibit the Adhesion of Enteropathogenic Escherichia coli to HeLa Cells, BMC Microbiol. 1:25 (2001). El documento WO 2012/091946 describe un método de inhibición de una invasión bacteriana o un mecanismo de adhesión que implica la administración de una composición nutricional que incluye lactoferrina y una composición prebiótica. El documento EP 2251030 describe el uso de una composición que comprende lactoferrina para la salud del cerebro, la protección del cerebro y el desarrollo del cerebro.

20 Además, la lactoferrina humana parece tener un efecto positivo sobre los síntomas de las enfermedades diarreicas. Sin embargo, algunas mujeres no desean o no pueden amamantar. De acuerdo con lo anterior, en un esfuerzo por imitar la leche materna, sería beneficioso proporcionar una composición nutricional para un sujeto pediátrico que contiene lactoferrina de una fuente no humana. Sin embargo, la adición de lactoferrina a composiciones nutricionales comercialmente viables ha sido generalmente limitada debido a la tendencia de la lactoferrina a perder capacidad funcional durante las etapas de procesamiento de la fórmula que implican fluctuaciones significativas en la temperatura y/o el pH.

25 Además, la microflora intestinal del bebé se establece rápidamente en las primeras semanas después del nacimiento, y tiene un gran impacto en el sistema inmune de un bebé. La naturaleza de esta colonización intestinal se determina inicialmente por la exposición temprana a fuentes ambientales de microbios y por el estado general de salud del bebé. Si el lactante es amamantado o alimentado con fórmula también tiene una gran influencia en la población bacteriana intestinal.

30 La leche humana contiene un número de factores que pueden contribuir al crecimiento y la población de la microflora intestinal de los lactantes. Entre estos factores se encuentra una mezcla compleja de más de 130 oligosacáridos diferentes que alcanzan niveles tan altos como 8-12 g/L en leche de transición y madura. Kunz, et al., Oligosaccharides in Human Milk: Structure, Functional, and Metabolic Aspects, Ann. Rev. Nutr. 20: 699-722 (2000). Estos oligosacáridos son resistentes a la digestión enzimática en el tracto gastrointestinal superior y alcanzan el colon intacto, donde sirven como sustratos para la fermentación colónica.

35 La leche de vaca y las fórmulas infantiles disponibles en el mercado que se basan en leche de vaca proporcionan solo cantidades traza de oligosacáridos; como resultado, los prebióticos se pueden usar para complementar la dieta de los lactantes alimentados con fórmula. Los prebióticos se han definido como ingredientes alimentarios no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de uno o un número limitado de células en el colon que pueden mejorar la salud del huésped.

40 Tanto la interacción entre los componentes de la dieta como entre la microflora del ecosistema intestinal son muy complejas. En consecuencia, entonces, la matriz de una fórmula infantil u otra composición nutricional pediátrica puede influir en la efectividad de los prebióticos cuando tales ingredientes se proporcionan como suplementos en la dieta de un lactante alimentado con fórmula. Además, el tipo y la concentración de proteínas usadas en una matriz de fórmula también pueden modular la microbiota intestinal. Debido a que la leche humana es la fuente preferida de nutrición infantil, es deseable proporcionar una matriz de fórmula que imite las cualidades de la leche humana al permitir la suplementación eficaz de los prebióticos como ingredientes alimentarios funcionales.

De acuerdo con lo anterior, sería beneficioso proporcionar una composición nutricional para sujetos pediátricos que contenga tanto lactoferrina como prebióticos.

## Divulgación de la invención

En resumen, la presente divulgación se refiere a una composición para uso en la reducción de la incidencia de enterocolitis necrosante en un lactante en la que la composición comprende una composición nutricional a base de leche que comprende lactoferrina de una fuente no humana, en la que la lactoferrina está presente en un nivel de 10 mg/100 kcal a 240 mg/100 kcal, y un componente prebiótico que comprende polidextrosa y galactooligosacáridos, en la que la polidextrosa comprende al menos 20 % p/p del componente prebiótico.

Se debe entender que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada presentan realizaciones de la divulgación y están destinadas a proporcionar una visión general o marco para comprender la naturaleza y el carácter de la divulgación tal como se reivindica. La descripción sirve para explicar los principios y operaciones de la materia reivindicada. Otras características y ventajas adicionales de la presente divulgación serán evidentes para los expertos en el arte tras la lectura de la siguiente divulgación.

## Breve descripción de los dibujos

La figura 1 ilustra la incidencia reducida de enterocolitis necrosante (NEC) en ratas alimentadas con una fórmula que contiene 0.85 mg/mL de lactoferrina bovina (LF baja) y ratas alimentadas con una fórmula que contiene 5.25 mg/mL de lactoferrina bovina (LF alta) en comparación con las ratas alimentadas con fórmula que no contenía lactoferrina (FF).

La figura 2 ilustra un sistema de puntuación histológica para el íleon terminal de ratas recién nacidas. Los cambios histológicos en el íleon se clasificaron de la siguiente manera: (0) para normal, sin daño; (1) para la separación leve, ligera de la submucosa y/o lámina propia; (2) para la separación moderada de submucosa y/o lámina propia, y/o edema en submucosa y capas musculares; (3) para la separación severa de submucosa y/o lámina propia y/o edema severo en submucosa y capas musculares, esfacelo vellosos regional; (4) para la pérdida de vellosidades y necrosis.

La figura 3 ilustra la puntuación histológica de NEC asignada para indicar el grado de lesión intestinal en diversas ratas prematuras tratadas con administración oral de una fórmula que contiene 0.85 mg/mL de lactoferrina bovina (LF baja), una fórmula que contiene 5.25 mg/mL de lactoferrina bovina (LF alta) o fórmula que no contenía lactoferrina (FF).

## Mejor modo para llevar a cabo la invención

Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de la presente divulgación, uno o más ejemplos de los cuales se exponen a continuación. Cada ejemplo se proporciona a modo de explicación de la composición nutricional de la presente divulgación y no es una limitación. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una realización se pueden usar con otra realización para dar lugar a otra realización más.

De este modo, se pretende que la presente divulgación cubra tales modificaciones y variaciones que entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes. Otros objetos, características y aspectos de la presente divulgación se describen en la siguiente descripción detallada o son obvios. Un experto en el arte debe entender que la presente discusión es solamente una descripción de realizaciones de ejemplo y no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente divulgación.

La presente divulgación se refiere en general a composiciones nutricionales a base de leche que comprenden lactoferrina que son apropiadas para la administración a un sujeto pediátrico.

"Composición nutricional" significa una sustancia o formulación que satisface al menos una parte de los requisitos nutricionales de un sujeto. Los términos "nutricional(es)", "fórmula(s) nutricional(es)", "nutricional(es) enteral(es)" y "suplemento(s) nutricional" se usan como ejemplos no limitantes de composición(es) nutricional(es) a lo largo de la presente divulgación. Además, "composición(es) nutricional(es)" se puede referir a líquidos, polvos, geles, pastas, sólidos, concentrados, suspensiones o fórmulas listas para usar de fórmulas enterales, fórmulas orales, fórmulas para lactantes, fórmulas para sujetos pediátricos, fórmulas para niños, leches para niños en crecimiento y/o fórmulas para adultos.

El término "enteral" significa que se puede administrar a través o dentro del tracto gastrointestinal o digestivo. La "administración enteral" incluye la alimentación oral, la alimentación intragástrica, la administración transpilórica o cualquier otra administración en el tracto digestivo. La "administración" es más amplia que la "administración enteral" e incluye la administración parenteral o cualquier otra vía de administración mediante la cual se lleva una sustancia en el cuerpo de un sujeto.

"Sujeto pediátrico" significa un ser humano menor de 13 años. En algunas realizaciones, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano que está entre el nacimiento y los 8 años. En otras realizaciones, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano entre 1 y 6 años. En otras realizaciones más, un sujeto pediátrico se refiere a un sujeto humano entre 6 y 12 años. El término "sujeto pediátrico" se puede referir a lactantes (prematuros o de término completo) y/o niños, como se describe a continuación.

- "Lactante" significa un sujeto humano que tiene una edad que va desde el nacimiento hasta no más de un año e incluye lactantes desde 0 a 12 meses de edad corregida. La frase "edad corregida" significa la edad cronológica de un lactante menos la cantidad de tiempo que el lactante nació prematuro. Por lo tanto, la edad corregida es la edad del lactante si se hubiera llevado a término. El término lactante incluye lactantes de bajo peso al nacer, lactantes de muy bajo peso al nacer, lactantes de peso extremadamente bajo al nacer y lactantes prematuros. "Pretérmino" significa un lactante nacido antes del final de la semana 37 de gestación. "Pretérmino tardío" significa una forma de lactante entre la semana 34 y la semana 36 de gestación. "Término completo" significa un lactante nacido después del final de la semana 37 de gestación. "Lactante de bajo peso al nacer" significa un lactante nacido que pesa menos de 2500 gramos (aproximadamente 5 libras, 8 onzas). "Bebé de muy bajo peso al nacer" significa un niño nacido que pesa menos de 1500 gramos (aproximadamente 3 libras, 4 onzas).
- "Lactante de muy bajo peso al nacer" significa un lactante nacido que pesa menos de 1000 gramos (aproximadamente 2 libras, 3 onzas).
- "Niño" significa un sujeto que tiene una edad comprendida entre 12 meses y aproximadamente 13 años. En algunas realizaciones, un niño es un sujeto entre las edades de 1 y 12 años. En otras realizaciones, los términos "niños" o "niño" se refieren a sujetos que tienen entre uno y aproximadamente seis años, o entre aproximadamente siete y aproximadamente 12 años. En otras realizaciones, los términos "niños" o "niño" se refieren a cualquier intervalo de edades entre 12 meses y aproximadamente 13 años.
- "Producto nutricional para niños" se refiere a una composición que satisface al menos una parte de los requerimientos de nutrientes de un niño. Una leche para niños en crecimiento es un ejemplo de un producto nutricional para niños.
- El término "grado de hidrólisis" se refiere al grado en que los enlaces peptídicos se rompen mediante un método de hidrólisis.
- El término "parcialmente hidrolizado" significa que tiene un grado de hidrólisis que es mayor que 0% pero menor que aproximadamente 50%.
- El término "ampliamente hidrolizado" significa que tiene un grado de hidrólisis que es mayor que o igual a aproximadamente 50%.
- El término "sin proteínas" significa que no contiene ninguna cantidad medible de proteína, medida mediante métodos estándar de detección de proteínas tales como electroforesis en gel de poliacrilamida-dodecil (lauril) sulfato de sodio (SDS-PAGE) o cromatografía de exclusión de tamaño. En algunas realizaciones, la composición nutricional está sustancialmente libre de proteína, en la que "sustancialmente libre" se define a continuación.
- "Fórmula infantil" significa una composición que satisface al menos una parte de los requerimientos de nutrientes de un lactante. En los Estados Unidos, el contenido de una fórmula para bebés está dictado por las reglamentaciones federales establecidas en 21 C.F.R. Secciones 100, 106 y 107. Estas regulaciones definen los niveles de macronutrientes, vitaminas, minerales y otros ingredientes en un esfuerzo por simular las propiedades nutricionales y otras de la leche materna humana.
- El término "leche para niños en crecimiento" se refiere a una amplia categoría de composiciones nutricionales destinadas a ser usadas como parte de una dieta diversa con el fin de apoyar el crecimiento y desarrollo normal de un niño entre las edades de aproximadamente 1 y aproximadamente 6 años.
- "Basado en leche" significa que comprende al menos un componente que se ha obtenido o extraído de la glándula mamaria de un mamífero. En algunas realizaciones, una composición nutricional basada en leche comprende componentes de leche que se derivan de ungulados domesticados, rumiantes u otros mamíferos o cualquier combinación de los mismos. Además, en algunas realizaciones, los medios a base de leche que comprenden caseína bovina, suero de leche, lactosa o cualquier combinación de los mismos. Además, "composición nutricional a base de leche" se puede referir a cualquier composición que comprenda cualquier producto derivado de la leche o a base de leche conocido en la técnica.
- "Nutricionalmente completo" significa una composición que puede usarse como única fuente de nutrición, que proporcionaría esencialmente todas las cantidades diarias requeridas de vitaminas, minerales y/u oligoelementos en combinación con proteínas, carbohidratos y lípidos. De hecho, "nutricionalmente completo" describe una composición nutricional que proporciona cantidades adecuadas de carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos esenciales condicionalmente, vitaminas, minerales y la energía necesarios para apoyar el crecimiento normal y el desarrollo de un sujeto.
- Por lo tanto, una composición nutricional que sea "nutricionalmente completa" para un lactante prematuro proporcionará, por definición, cantidades cualitativas y cuantitativas adecuadas de carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos esenciales condicionalmente, vitaminas, minerales y la energía requeridos para el crecimiento del lactante prematuro.

Una composición nutricional que es "nutricionalmente completa" para un lactante a término completo, por definición, proporcionará cantidades cualitativas y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos esenciales condicionalmente, vitaminas, minerales y energía requeridos para el crecimiento del lactante a término.

- 5 Una composición nutricional que es "nutricionalmente completa" para un niño proporcionará, por definición, cantidades cualitativas y cuantitativamente adecuadas de todos los carbohidratos, lípidos, ácidos grasos esenciales, proteínas, aminoácidos esenciales, aminoácidos esenciales condicionalmente, vitaminas, minerales y la energía requerida para el crecimiento de un niño.

- 10 Como se aplica a los nutrientes, el término "esencial" se refiere a cualquier nutriente que no puede ser sintetizado por el cuerpo en cantidades suficientes para el crecimiento normal y para mantener la salud y que, por lo tanto, debe ser suministrado por la dieta. El término "esencial condicionalmente" como se aplica a productos de nutrientes significa que el alimento debe ser suministrado por la dieta en condiciones en las que el cuerpo no dispone de cantidades adecuadas del compuesto precursor para que se produzca la síntesis endógena.

- 15 "Probiótico" significa un microorganismo con baja o nula patogenicidad que ejerce un efecto beneficioso sobre la salud del huésped.

El término "probiótico inactivado" significa un probiótico en el que la actividad metabólica o la capacidad reproductiva del probiótico referenciado se ha reducido o destruido. El "probiótico inactivado", sin embargo, todavía retiene, a nivel celular, al menos una parte de su estructura biológica de glicol-proteína y ADN/ARN. Como se usa en este documento, el término "inactivado" es sinónimo de "no viable".

- 20 "Prebiótico" significa un ingrediente alimentario no digerible que afecta beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de uno o un número limitado de bacterias en el tracto digestivo que pueden mejorar la salud del huésped.

- 25 "Fitonutriente" significa un compuesto químico que se produce de forma natural en las plantas. Los fitonutrientes se pueden incluir en cualquier sustancia o extracto derivado de plantas. El término "fitonutriente(s)" abarca varias categorías amplias de compuestos producidos por plantas, tales como, por ejemplo, compuestos polifenólicos, antocianinas, proantocianidinas y flavan-3-oles (esto es, catequinas, epicatequinas), y puede derivarse de, por ejemplo, extractos de frutas, semillas o té. Además, el término fitonutriente incluye todos los carotenoides, fitoesteres, tioles y otros compuestos derivados de plantas. Además, como entenderá un experto en el arte, los extractos de plantas pueden incluir fitonutrientes, tales como polifenoles, además de proteína, fibra u otros componentes derivados de plantas. De este modo, por ejemplo, los extractos de semillas de manzana o uva pueden incluir componentes beneficiosos de fitonutrientes, tales como polifenoles, además de otras sustancias derivadas de plantas.

- 30 "B-glucano" significa todo el  $\beta$ -glucano, que incluye tipos específicos de  $\beta$ -glucano, tal como  $\beta$ -1,3-glucano o  $\beta$ -1,3; 1,6-glucano. Además, el  $\beta$ -1,3; 1,6-glucano es un tipo de  $\beta$ -1,3-glucano. Por lo tanto, el término " $\beta$ -1,3-glucano" incluye  $\beta$ -1,3; 1,6-glucano.

- 35 "Pectina" significa cualquier oligosacárido o polisacárido de origen natural que comprende ácido galacturónico que se puede encontrar en la pared celular de una planta. En la técnica se conocen diferentes variedades y grados de pectina que tienen propiedades físicas y químicas variadas. De hecho, la estructura de la pectina puede variar significativamente entre las plantas, entre los tejidos, e incluso dentro de una sola pared celular. Generalmente, la pectina está compuesta de azúcares ácidos cargados negativamente (ácido galacturónico), y algunos de los grupos ácidos están en forma de un grupo éster metílico. El grado de esterificación de la pectina es una medida del porcentaje de los grupos carboxilo unidos a las unidades de ácido galactopiranosilurónico que están esterificados con metanol.

- 40 Las pectinas que tienen un grado de esterificación de menos del 50% (esto es, menos del 50% de los grupos carboxilo están metilados para formar grupos éster metílico) se clasifican como pectinas de bajo contenido en éster, de bajo metoxilo o de bajo contenido de metilo ("LM"), mientras que aquellas que tienen un grado de esterificación de 50% o mayor (esto es, más de 50% de los grupos carboxilo están metilados) se clasifican como pectinas de alto éster, alto metoxilo o alto metilado ("HM"). Las pectinas muy bajas ("VL"), un subconjunto de pectinas poco metiladas, tienen un grado de esterificación que es inferior a aproximadamente el 15%.

- 45 "Patógeno" significa un organismo que causa un estado de enfermedad o síndrome patológico. Los ejemplos de patógenos pueden incluir bacterias, virus, parásitos, hongos, microbios o combinación(es) de los mismos.

- 50 "Modular" o "que modula" significa ejercer una influencia de modificación, control y/o regulación. En algunas realizaciones, el término "modular" significa que exhibe un efecto de aumento o estimulación sobre el nivel/cantidad de un componente particular. En otras realizaciones, "modular" significa que exhibe un efecto decreciente o inhibidor sobre el nivel/cantidad de un componente particular.

Todos los porcentajes, partes y proporciones, como se usan en este documento, son en peso de la formulación total, a menos que se especifique lo contrario.

Todas las cantidades especificadas como administradas "por día" se pueden administrar en una dosis unitaria, en una sola porción o en dos o más dosis o porciones administradas en el transcurso de un período de 24 horas.

5 La composición nutricional de la presente divulgación puede estar sustancialmente libre de cualquier ingrediente opcional o seleccionado descrito en este documento, con la condición de que la composición nutricional restante todavía contenga todos los ingredientes o características requeridos descritos en este documento. En este contexto, y salvo que se especifique lo contrario, el término "sustancialmente libre" significa que la composición seleccionada puede contener  
10 menos de una cantidad funcional del ingrediente opcional, por lo general menos de 0.1% en peso, y también, incluyendo cero por ciento en peso de tal ingrediente opcional o seleccionado.

Todas las referencias a las características o limitaciones singulares de la presente divulgación incluirán la característica o limitación plural correspondiente, y viceversa, a menos que se especifique lo contrario o implique claramente lo contrario según el contexto en el que se hace la referencia.

15 Todas las combinaciones de métodos o etapas de proceso, como se usan en este documento, se pueden realizar en cualquier orden, a menos que se especifique lo contrario o implique claramente lo contrario según el contexto en el que se realiza la combinación a la que se hace referencia.

Los métodos y composiciones de la presente divulgación, que incluyen componentes de los mismos, pueden comprender, consistir en, o consistir esencialmente en los elementos y limitaciones esenciales de las realizaciones descritas en este documento, así como cualquier ingrediente, componente o limitación adicional u opcional descrito en  
20 este documento o de otra manera útil en composiciones nutricionales.

Como se usa en este documento, el término "aproximadamente" se debe interpretar para referirse a los dos números especificados como punto(s) final(es) de cualquier intervalo. Se debe considerar que cualquier referencia a un intervalo proporciona soporte para cualquier subconjunto dentro de ese intervalo.

25 La presente divulgación se refiere a composiciones nutricionales a base de leche que comprenden lactoferrina y/o un componente prebiótico, a sus usos, y a métodos que comprenden la administración de esas composiciones nutricionales. Las composiciones nutricionales de la presente divulgación respaldan la salud y el desarrollo general en un sujeto humano pediátrico, tal como un lactante (prematureo y/o término) o un niño.

La microflora intestinal desempeña un papel crucial en el desarrollo posnatal de la mayoría de las funciones gastrointestinales y también en el desarrollo del sistema inmune asociado al intestino en sujetos pediátricos. De acuerdo con lo anterior, la composición nutricional de la presente divulgación respalda la salud y el desarrollo gastrointestinales. Además, una flora intestinal saludable apoya una comunicación cerebro-intestino apropiada, que afecta la función cerebral y, en consecuencia, las respuestas de estrés psicológico, lo que resulta en un comportamiento modificado. La administración conjunta de un componente prebiótico y la lactoferrina puede modular la flora intestinal de un sujeto pediátrico aumentando las bacterias beneficiosas y/o reduciendo la adhesión de patógenos en el sistema  
30 gastrointestinal.  
35

La presente divulgación se refiere a una composición para uso en la reducción de la aparición de enterocolitis necrosante (NEC) en un sujeto pediátrico, que comprende administrar un componente prebiótico y lactoferrina a un sujeto pediátrico. En algunas realizaciones, la aparición reducida de NEC se asocia con una mejora en la formación de una capa de moco intestinal en un lactante mediante la administración de lactoferrina. Más específicamente, los inventores de la presente solicitud han descubierto que la producción ileal de mucina(s) puede aumentarse en un lactante cuando se administra a dicho lactante una composición nutricional que comprende lactoferrina. De este modo, en algunas realizaciones, la presente divulgación se refiere a un método para mejorar la formación de la capa de moco en un lactante, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de lactoferrina al lactante. En otras realizaciones, la presente divulgación se refiere a un método para aumentar la producción ileal de mucina en un sujeto pediátrico mediante la administración de una composición nutricional que comprende lactoferrina y al menos un prebiótico para el sujeto pediátrico.  
40  
45

Además, durante los primeros años de vida, los lactantes y los niños experimentan muchas situaciones estresantes debido, por ejemplo, a un entorno cambiante, hambre o cansancio. En consecuencia, se liberan hormonas del estrés, que pueden afectar negativamente el desarrollo del cerebro y/o causar otros efectos perjudiciales a largo plazo en un sujeto pediátrico. A pesar de esto, los inventores de la presente divulgación han descubierto que la administración de lactoferrina a un sujeto pediátrico puede reducir o suprimir el estrés psicológico y/o modular los niveles plasmáticos de corticosterona, promoviendo así un crecimiento y desarrollo cerebral y cognitivo sanos en un paciente pediátrico.  
50

El desarrollo del cerebro, la funcionalidad del cerebro y, por lo tanto, el comportamiento se puede modular en un sujeto mediante la administración de lactoferrina. Además, la administración de lactoferrina puede afectar el eje suprarrenal hipotalámico-hipofisario (HPA), su comunicación con el sistema gastrointestinal, el cerebro y/u otros sistemas  
55

corporales. En los lactantes, la inmadurez del intestino a menudo causa síntomas gastrointestinales que afectan su estado nutricional con consecuencias para su salud general. La presente divulgación está dirigida a una composición nutricional que proporciona, en algunas realizaciones, lactoferrina bovina y al menos un probiótico, en la que la administración de dicha composición nutricional modifica el desarrollo intestinal y la comunicación del intestino con el cerebro a través del eje del intestino. Además, las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden tener un impacto positivo en las funciones relacionadas con el cerebro.

En ciertas otras realizaciones, la composición nutricional comprende una combinación de *Lactobacillus helveticus* y *Bifidobacterium longum*. La administración de una composición nutricional que comprende estos probióticos a un sujeto pediátrico puede dar como resultado una ansiedad reducida en el sujeto y/o una disminución del cortisol sérico en el sujeto, indicando así los efectos psicológicos beneficiosos.

Además, en algunas realizaciones, la composición nutricional puede comprender *Lactobacillus rhamnosus*. La administración de *Lactobacillus rhamnosus* a un paciente pediátrico puede reducir los niveles de corticosterona inducidos por el estrés, lo que reduce la aparición de la ansiedad y/o los comportamientos relacionados con la depresión.

En otras realizaciones, la administración de lactoferrina modula la función de barrera intestinal en un sujeto. Además, en algunas realizaciones, la administración de lactoferrina modula el sistema inmune. En realizaciones adicionales, la administración de lactoferrina modula el sistema opioide. Y en realizaciones particulares, la lactoferrina se comporta como un antagonista opioide. En otras realizaciones más, la lactoferrina modula otros procesos fisiológicos, que incluyen la saciedad, la ingesta de alimentos y la regulación del metabolismo de la glucosa y/o la grasa.

Además, los lactantes, particularmente los lactantes prematuros, a menudo se enfrentan a infecciones graves, tales como sepsis, neumonía e infección(es) del tracto urinario. De acuerdo con lo anterior, como resultado de los efectos beneficiosos aditivos y/o sinérgicos de la administración de un componente prebiótico junto con la lactoferrina, la morbilidad a pretérmino se puede reducir.

Como se usa en este documento, "lactoferrina de una fuente no humana" significa lactoferrina que se produce u obtiene de una fuente distinta a la leche materna humana. Por ejemplo, la lactoferrina para uso en la presente divulgación incluye lactoferrina humana producida por un organismo genéticamente modificado así como lactoferrina no humana. El término "organismo", como se usa en este documento, se refiere a cualquier sistema vivo contiguo, tal como animal, planta, hongo o microorganismo. El término "lactoferrina no humana", como se usa en este documento, se refiere a lactoferrina que tiene una secuencia de aminoácidos que es diferente de la secuencia de aminoácidos de la lactoferrina humana.

Las lactoferrinas son polipéptidos monocatenarios de aproximadamente 80 kD que contienen 1 -4 glicanos, dependiendo de la especie. Las estructuras 3-D de lactoferrina de diferentes especies son muy similares, pero no idénticas. Cada lactoferrina comprende dos lóbulos homólogos, llamados N-y C-lóbulos, que se refieren a la parte N-terminal y C-terminal de la molécula, respectivamente. Cada lóbulo consta además de dos sublóbulos o dominios, que forman una hendidura en la que el ion férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) está fuertemente unido en cooperación sinérgica con un anión (bi) carbonato. Estos dominios se llaman N1, N2, C1 y C2, respectivamente. El extremo N de lactoferrina tiene regiones peptídicas catiónicas fuertes que son responsables de un número de características importantes de unión. La lactoferrina tiene un punto isoeléctrico muy alto ( $\sim \text{pI } 9$ ) y su naturaleza catiónica juega un papel importante en su capacidad de defensa contra patógenos bacterianos, víricos y fúngicos. Hay varios grupos de residuos de aminoácidos catiónicos dentro de la región N-terminal de lactoferrina que median las actividades biológicas de la lactoferrina contra una amplia gama de microorganismos. Por ejemplo, los residuos N-terminal 1-47 de lactoferrina humana (1-48 de lactoferrina bovina) son críticos para las actividades biológicas independientes de hierro de la lactoferrina. En la lactoferrina humana, los residuos 2 a 5 (RRRR) y 28 a 31 (RKVR) son dominios catiónicos ricos en arginina en el extremo N, especialmente crítico para las actividades antimicrobianas de la lactoferrina. Una región similar en el extremo N se encuentra en la lactoferrina bovina (residuos 17 a 42; FKRRWQWRMKKLGAPSITCVRRAFA).

Como se describe en "Perspectives on Interactions Between Lactoferrin and Bacteria", que apareció en la publicación BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, pp 275-281 (2006), las lactoferrinas de diferentes especies hospedadoras pueden variar en sus secuencias de aminoácidos, aunque comúnmente poseen un punto isoeléctrico relativamente alto con aminoácidos cargados positivamente en la región terminal extremo del lóbulo interno. Las lactoferrinas apropiadas para uso en la presente divulgación incluyen aquellas que tienen al menos un 48% de homología con la secuencia de aminoácidos AVGEQELRKCNQWSGL en el fragmento H1f (349-364). En algunas realizaciones, la lactoferrina tiene al menos un 65% de homología con la secuencia de aminoácidos AVGEQELRKCNQWSGL en el fragmento H1f (349-364) y, en realizaciones, al menos un 75% de homología. Por ejemplo, las lactoferrinas no humanas aceptables para uso en la presente divulgación incluyen, sin limitación, lactoferrina bovina, lactoferrina porcina, lactoferrina equina, lactoferrina de búfalo, lactoferrina de cabra, lactoferrina murina y lactoferrina de camello.

La lactoferrina para usar en la presente divulgación puede estar aislada, por ejemplo, de la leche de un animal no humano o producida por un organismo genéticamente modificado. Por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos No. 4,791,193, Okonogi et al. describe un proceso de producción de lactoferrina bovina de alta pureza. Generalmente, el

proceso como se describe incluye tres etapas. El material de la leche cruda se pone primero en contacto con un intercambiador catiónico débilmente ácido para absorber la lactoferrina, seguido por la segunda etapa en el que se realiza el lavado para eliminar las sustancias no absorbidas. Sigue una etapa de desorción donde se elimina la lactoferrina para producir lactoferrina bovina purificada. Otros métodos pueden incluir etapas como se describe en las patentes de Estados Unidos Nos. 7,368,141, 5,849,885, 5,919,913 and 5,861,491.

La lactoferrina está presente en la composición nutricional en una cantidad de al menos aproximadamente 10 mg/100 kCal. La composición nutricional incluye entre 10 y 240 mg de lactoferrina por 100 kCal. En otra realización, donde la composición nutricional es una fórmula infantil, la composición nutricional puede comprender lactoferrina en una cantidad de aproximadamente 70 mg a aproximadamente 220 mg de lactoferrina por 100 kCal; en aún otra realización, la composición nutricional puede comprender de aproximadamente 90 mg a aproximadamente 190 mg de lactoferrina por 100 kCal.

En algunas realizaciones, la composición nutricional puede incluir lactoferrina en cantidades desde aproximadamente 0.5 mg a aproximadamente 1.5 mg por mililitro de fórmula. En composiciones nutricionales que reemplazan a la leche humana, la lactoferrina puede estar presente en cantidades desde aproximadamente 0.6 mg a aproximadamente 1.3 mg por mililitro de fórmula. En ciertas realizaciones, la composición nutricional puede comprender entre aproximadamente 0.1 y aproximadamente 2 gramos de lactoferrina por litro. En algunas realizaciones, la composición nutricional incluye entre aproximadamente 0.5 y aproximadamente 1.5 gramos de lactoferrina por litro de fórmula.

Las composiciones nutricionales descritas en este documento comprenden lactoferrina no humana, lactoferrina no humana producida por un organismo genéticamente modificado y/o lactoferrina humana producida por un organismo genéticamente modificado. La lactoferrina generalmente se describe como una glicoproteína de 80 kilodalton que tiene una estructura de dos lóbulos casi idénticos, ambos de los cuales incluyen sitios de unión al hierro. Como se describe en " Perspectives on Interactions Between Lactoferrin and Bacteria", que apareció en la publicación BIOCHEMISTRY AND CELL BIOLOGY, pp 275-281 (2006), la lactoferrina de diferentes especies huésped puede variar en una secuencia de aminoácidos, aunque comúnmente posee un punto isoeléctrico relativamente alto con aminoácidos cargados positivamente en la región terminal extremo del lóbulo interno. La lactoferrina ha sido reconocida por tener actividades bactericidas y antimicrobianas.

Sorprendentemente, las formas de lactoferrina incluidas en este documento mantienen actividad relevante incluso si se exponen a un pH bajo (esto es, por debajo de aproximadamente 7, e incluso tan bajo como aproximadamente 4.6 o inferior) y/o temperaturas elevadas (esto es, por encima de aproximadamente 65 °C), y tan alto como aproximadamente 120 °C, condiciones que se esperaría que destruyeran o limitaran severamente la estabilidad o actividad de la lactoferrina humana o lactoferrina humana recombinante. Estas condiciones de pH bajo y/o alta temperatura pueden esperarse durante cierto régimen de procesamiento para composiciones nutricionales de los tipos descritos en este documento, tales como pasteurización.

En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación comprende lactoferrina bovina. La lactoferrina bovina (bLF) es una glicoproteína que pertenece al transportador de hierro o a la familia que se transfiere. Se aísla de la leche bovina, en la que se encuentra como un componente del suero de leche. Existen diferencias conocidas entre la secuencia de aminoácidos, los patrones de glicosilación y la capacidad de fijación de hierro en lactoferrina humana y bovina. Adicionalmente, hay etapas de procesamiento múltiples y secuenciales implicados en el aislamiento de lactoferrina bovina de la leche de vaca que afectan las propiedades fisicoquímicas de la preparación de lactoferrina bovina resultante. También se informa que la lactoferrina humana y bovina tiene diferencias en sus capacidades para unirse al receptor de lactoferrina que se encuentra en el intestino humano.

En ciertas realizaciones, la bLF se ha aislado a partir de leche entera que tiene un bajo recuento de células somáticas. En algunas realizaciones, "recuento bajo de células somáticas" se refiere a una concentración de menos de 200,000 células/mL.

Sin pretender imponer ninguna otra teoría, se cree que la bLF que se ha aislado de la leche entera tiene menos lipopolisacárido (LPS) inicialmente unido que la bLF que se ha aislado de la leche en polvo. Adicionalmente, se cree que la bLF con un bajo recuento de células somáticas tiene menos LPS unido inicialmente. Una bLF con menos LPS unido inicialmente tiene más sitios de unión disponibles en su superficie. Se cree que esto ayuda a la bLF a unirse a la ubicación apropiada y a interrumpir el proceso de infección.

La bLF que se usa en ciertas realizaciones puede ser cualquier bLF aislada de leche entera y/o tener un bajo recuento de células somáticas, en la que "recuento de células somáticas bajo" se refiere a un recuento de células somáticas menor que 200,000 células/mL. A modo de ejemplo, la bLF apropiada está disponible en Tatua Co-operative Dairy Co. Ltd., in Morrinsville, New Zealand, from FrieslandCampina Domo in Amersfoort, Países Bajos o de Fonterra Co-Operative Group Limited en Auckland, Nueva Zelanda.

En una realización, la bLF se puede administrar a través de una solución, cápsula, comprimido o comprimido oblongo. Los portadores para bLF pueden tener una concentración de bLF de entre aproximadamente el 0.01% y aproximadamente el 100%.

- La composición nutricional también contiene prebióticos (también denominados componente prebiótico) que comprenden povidextrosa y galactooligosacáridos. Los prebióticos ejercen beneficios para la salud, que pueden incluir, pero no se limitan a, la estimulación selectiva del crecimiento y/o la actividad de uno o un número limitado de bacterias intestinales beneficiosas, la estimulación del crecimiento y/o la actividad de microorganismos probióticos ingeridos, la reducción selectiva en patógenos intestinales, e influencia favorable en el perfil de ácidos grasos de cadena corta intestinal. Tales prebióticos pueden ser de origen natural, sintéticos o desarrollarse a través de la manipulación genética de organismos y/o plantas, ya se conozca o se desarrolle posteriormente dicha nueva fuente. Los prebióticos útiles en la presente divulgación pueden incluir oligosacáridos, polisacáridos y otros prebióticos que contienen fructosa, xilosa, soja, galactosa, glucosa y manosa.
- Más específicamente, los prebióticos útiles en la presente divulgación pueden incluir povidextrosa, polvo de povidextrosa, lactulosa, lactosacarosa, rafinosa, glucooligosacáridos, inulina, fructooligosacáridos, Isomaltooligosacárido, oligosacáridos de soja, lactosacarosa, xilooligosacáridos, quitoooligosacárido, manooligosacárido, aribinooligosacárido, sialiloligosacárido, fucooligosacárido, galactooligosacárido, y gentiooligosacárido.
- En una realización, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 1.0 g/L a aproximadamente 10.0 g/L de la composición. Más preferiblemente, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 2.0 g/L y aproximadamente 8.0 g/L de la composición. En algunas realizaciones, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 0.1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En ciertas realizaciones, la cantidad total de prebióticos presentes en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 0.3 g/100 kcal a aproximadamente 0.7 g/100 kcal. La composición nutricional comprende un componente prebiótico que comprende povidextrosa ("PDX"). El componente prebiótico comprende al menos un 20% p/p de PDX.
- La cantidad de PDX en la composición nutricional puede, en una realización, estar dentro del intervalo desde aproximadamente 0.1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En otra realización, la cantidad de povidextrosa está dentro del intervalo desde aproximadamente 0.2 g/100 kcal a aproximadamente 0.6 g/100 kcal. En algunas realizaciones, PDX se puede incluir en la composición nutricional en una cantidad suficiente para proporcionar entre aproximadamente 1.0 g/L y 10.0 g/L. En otra realización, la composición nutricional contiene una cantidad de PDX que está entre aproximadamente 2.0 g/L y 8.0 g/L. Y en otras realizaciones más, la cantidad de PDX en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 0.1 mg/100 kcal a aproximadamente 0.5 mg/100 kcal o aproximadamente 0.3 mg/100 kcal.
- El componente prebiótico comprende además galactooligosacárido (GOS). La cantidad de GOS en la composición nutricional puede, en una realización, ser desde aproximadamente 0.1 g/100 kcal a aproximadamente 1 g/100 kcal. En otra realización, la cantidad de GOS en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 0.2 g/100 kcal a aproximadamente 0.5 g/100 kcal. En otras realizaciones, la cantidad de GOS en la composición nutricional puede ser desde aproximadamente 0.1 mg/100 kcal a aproximadamente 1.0 mg/100 kcal o desde aproximadamente 0.1 mg/100 kcal a aproximadamente 0.5 mg/100 kcal.
- En una realización particular, GOS y PDX se complementan en la composición nutricional en una cantidad total de al menos aproximadamente 0.2 mg/100 kcal o aproximadamente 0.2 mg/100 kcal a aproximadamente 1.5 mg/100 kcal. En algunas realizaciones, la composición nutricional puede comprender GOS y PDX en una cantidad total desde aproximadamente 0.6 a aproximadamente 0.8 mg/100 kcal.
- Además, la(s) composición(es) nutricional(es) de la divulgación pueden comprender al menos una fuente de proteína. La fuente de proteína puede ser cualquiera usada en la técnica, por ejemplo, leche desnatada, proteína de suero de leche, caseína, proteína de soja, proteína hidrolizada, aminoácidos y similares. Las fuentes de proteína de leche bovina útiles para poner en práctica la presente divulgación incluyen, pero no están limitadas a, proteínas de leche en polvo, concentrados de proteína de leche, aislados de proteína de leche, sólidos de leche sin grasa, leche sin grasa, leche desnatada en polvo, proteína de suero de leche, aislados de proteína de suero de leche, concentrados de proteína de suero de leche, suero dulce, suero ácido, caseína, caseína ácida, caseinato (por ejemplo, caseinato sódico, caseinato cálcico sódico, caseinato cálcico) y cualquier combinación de los mismos.
- En algunas realizaciones, las proteínas de la composición nutricional se proporcionan como proteínas intactas. En otras realizaciones, las proteínas se proporcionan como una combinación de ambas proteínas intactas y proteínas hidrolizadas. En ciertas realizaciones, las proteínas se pueden hidrolizar parcialmente o hidrolizar de forma extensiva. En otras realizaciones más, la fuente de proteína comprende aminoácidos. En otra realización más, la fuente de proteína se puede complementar con péptidos que contienen glutamina. En otra realización, el componente de proteína comprende proteína extensamente hidrolizada. En otra realización más, el componente de proteína de la composición nutricional consiste esencialmente en proteína extensamente hidrolizada para minimizar la aparición de alergia a los alimentos. En otra realización más, la fuente de proteína se puede complementar con péptidos que contienen glutamina.
- Algunas personas exhiben alergias o sensibilidades a las proteínas intactas, esto es, proteínas completas, tales como las de la proteína de leche de vaca intacta o las fórmulas basadas en el aislado de proteína de soja intactas. Muchas de estas personas con alergias a proteínas o sensibilidades son capaces de tolerar proteínas hidrolizadas. Las fórmulas de

- hidrolizado (también denominadas fórmulas semielementales) contienen proteínas que se hidrolizaron o se fragmentaron en fragmentos peptídicos y aminoácidos cortos y, como resultado, se digieren más fácilmente. En personas con sensibilidades a proteínas o alergias, las alergias o sensibilidades asociadas al sistema inmune a menudo resultan en síntomas cutáneos, respiratorios o gastrointestinales, tal como vómitos y diarrea. Las personas que muestran reacciones a las fórmulas de proteínas intactas a menudo no reaccionan a las fórmulas de proteínas hidrolizadas porque su sistema inmune no reconoce la proteína hidrolizada como la proteína intacta que causa sus síntomas.
- Algunas gliadinas y caseínas bovinas pueden compartir epítomos reconocidos por anticuerpos IgA antigliadina. De acuerdo con lo anterior, entonces, la composición nutricional de la presente divulgación reduce la incidencia de alergia a los alimentos, tal como, por ejemplo, alergias a proteínas y, en consecuencia, la reacción inmune de algunos pacientes a proteínas tales como caseína bovina, proporcionando un componente de proteína que comprende proteínas hidrolizadas, tales como proteína de suero hidrolizada y/o proteína de caseína hidrolizada. Un componente de proteína hidrolizada contiene menos epítomos alergénicos que un componente de proteína intacto.
- De acuerdo con lo anterior, en algunas realizaciones, el componente de proteína de la composición nutricional comprende proteína hidrolizada ya sea parcial o extensamente, tal como proteína de leche de vaca. Las proteínas hidrolizadas se pueden tratar con enzimas para descomponer algunas o la mayoría de las proteínas que causan síntomas adversos con el objetivo de reducir las reacciones alérgicas, la intolerancia y la sensibilización. Además, las proteínas se pueden hidrolizar por cualquier método conocido en la técnica.
- Los términos "hidrolizados de proteínas" o "proteína hidrolizada" se usan indistintamente en este documento y se refieren a proteínas hidrolizadas, en las que el grado de hidrólisis puede ser desde aproximadamente 20% a aproximadamente 80%, o desde aproximadamente 30% a aproximadamente 80%, o incluso desde aproximadamente 40% a aproximadamente 60%. El grado de hidrólisis es la medida en que los enlaces peptídicos se rompen mediante un método de hidrólisis. El grado de hidrólisis de proteínas con el fin de caracterizar el componente de proteína hidrolizada de la composición nutricional se determina fácilmente por un experto habitual en el arte de formulación cuantificando la proporción del nitrógeno amino a nitrógeno total (AN/TN) del componente proteico de la formulación seleccionada. El componente de nitrógeno amino se cuantifica por métodos de titulación de USP para determinar el contenido de nitrógeno amino, mientras que el componente de nitrógeno total se determina por el método de Tecator Kjeldahl, todos los cuales son métodos bien conocidos para un experto en el arte de la química analítica.
- Cuando un enlace peptídico en una proteína se rompe por hidrólisis enzimática, se libera un grupo amino por cada enlace peptídico roto, lo que provoca un aumento en nitrógeno amino. Se debe observar que incluso la proteína no hidrolizada contendría algunos grupos amino expuestos. Las proteínas hidrolizadas también tendrán una distribución de peso molecular diferente que las proteínas no hidrolizadas de las que se formaron. Las propiedades funcionales y nutricionales de las proteínas hidrolizadas pueden verse afectadas por los diferentes tamaños de péptidos. Generalmente, se proporciona un perfil de peso molecular enumerando el porcentaje en peso de intervalos particulares de fracciones de peso molecular (en Dalton) (por ejemplo, de 2,000 a 5,000 Dalton, mayores de 5,000 Dalton).
- Como se mencionó anteriormente, las personas que exhiben sensibilidad a proteínas enteras o intactas se pueden beneficiar del consumo de fórmulas nutricionales que contienen proteínas hidrolizadas. Estas personas sensibles se pueden beneficiar especialmente del consumo de una fórmula hipoalérgica.
- En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación está sustancialmente libre de proteínas intactas. En este contexto, el término "sustancialmente libre" significa que las realizaciones preferidas en este documento comprenden concentraciones suficientemente bajas de proteína intacta para hacer de este modo que la fórmula sea hipoalérgica. El grado en que una composición nutricional según la divulgación está sustancialmente libre de proteínas intactas y, por lo tanto, hipoalérgico, está determinado por the August 2000 Policy Statement of the American Academy of Pediatrics en la que se define una fórmula hipoalérgica como una que en estudios clínicos apropiados demuestran que no provoca reacciones en el 90% de los lactantes o niños con alergia confirmada a la leche de vaca con un 95% de confianza cuando se administran en ensayos prospectivos aleatorios, doble ciego, controlados con placebo.
- Otra alternativa para sujetos pediátricos, tales como lactantes, que tienen alergia a los alimentos y/o alergias a la proteína de la leche es una composición nutricional libre de proteínas basada en aminoácidos. Los aminoácidos son las unidades básicas de construcción estructural de la proteína. El rompimiento de las proteínas hasta su estructura química básica mediante la predigestión completa de las proteínas hace que las fórmulas basadas en aminoácidos sean las fórmulas más hipoalérgicas disponibles.
- En una realización particular, la composición nutricional está libre de proteínas y contiene aminoácidos libres como fuente de proteína equivalente. En esta realización, los aminoácidos pueden comprender, pero no se limitan a, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina, alanina, arginina, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina, carnitina, taurina y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, los aminoácidos pueden ser aminoácidos de cadena ramificada. En otras realizaciones, se pueden incluir péptidos de aminoácidos pequeños como el componente de proteína de la composición

nutricional. Tales péptidos de aminoácidos pequeños pueden ser de origen natural o sintetizados. La cantidad de aminoácidos libres en la composición nutricional puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 g/100 kcal. En una realización, el 100% de los aminoácidos libres tienen un peso molecular de menos de 500 Dalton. En esta realización, la formulación nutricional puede ser hipoalergénica.

- 5 En una realización particular de la composición nutricional, la proporción de suero: caseína de la fuente de proteína es similar a la encontrada en la leche materna humana. En una realización, la fuente de proteína comprende desde aproximadamente 40% a aproximadamente 85% de proteína de suero de leche y desde aproximadamente 15% a aproximadamente 60% de caseína.

- 10 En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 1 g y aproximadamente 7 g de una fuente de proteína por 100 kcal. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 3.5 g y aproximadamente 4.5 g de proteína por 100 kcal.

- 15 Además, la composición nutricional de la presente divulgación puede comprender al menos un almidón o componente de almidón. Un almidón es un carbohidrato compuesto de dos fracciones de polímero distintas: amilosa y amilopectina. La amilosa es la fracción lineal que consiste en unidades de glucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,4. La amilopectina tiene la misma estructura que la amilosa, pero algunas de las unidades de glucosa se combinan en un enlace  $\alpha$ -1,6, dando lugar a una estructura ramificada. Los almidones generalmente contienen 17-24% de amilosa y desde 76-83% de amilopectina. A pesar de esto, se han desarrollado variedades genéticas especiales de plantas que producen almidón con proporciones inusuales de amilosa a amilopectina. Algunas plantas producen almidón que no contiene amilosa. Estos mutantes producen gránulos de almidón en el endospermo y el polen que se tiñen de rojo con yodo y que
- 20 contienen casi 100% de amilopectina. Las plantas predominantes entre las que producen amilopectina son el maíz ceroso, el sorgo ceroso y el almidón de arroz ceroso.

- El rendimiento de almidones en condiciones de calor, cizallamiento y ácido se puede modificar o mejorar mediante modificaciones químicas. Las modificaciones se logran generalmente mediante la introducción de grupos químicos sustituyentes. Por ejemplo, la viscosidad a altas temperaturas o alto cizallamiento se pueden aumentar o estabilizar mediante reticulación con reactivos di o polifuncionales, tales como oxiclورو de fósforo.
- 25

- En algunos casos, las composiciones nutricionales de la presente divulgación comprenden al menos un almidón que está gelatinizado o pregelatinizado. Como es sabido en la técnica, la gelatinización ocurre cuando las moléculas de polímero interactúan sobre una porción de su longitud para formar una red que atrapa las moléculas de solvente y/o soluto. Además, los geles se forman cuando las moléculas de pectina pierden algo de agua de hidratación debido a la hidratación competitiva de moléculas de cosoluto. Los factores que influyen en la aparición de gelificación incluyen el pH, la concentración de cosolutos, la concentración y el tipo de cationes, la temperatura y la concentración de pectina. En particular, la pectina LM gelificará solo en presencia de cationes divalentes, tal como iones de calcio. Y entre las pectinas LM, las que tienen el grado más bajo de esterificación tienen las temperaturas de gelificación más altas y la mayor necesidad de cationes divalentes para el puente cruzado.
- 30

- 35 Mientras tanto, la pregelatinización de almidón es un proceso de precocción de almidón para producir material que se hidrata y se hincha en agua fría. Luego, el almidón precocinado se seca, por ejemplo, mediante secado en tambor o secado por pulverización. Además, el almidón de la presente divulgación se puede modificar químicamente para ampliar adicionalmente el intervalo de sus propiedades terminadas. Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden comprender al menos un almidón pregelatinizado.

- 40 Los gránulos de almidón nativo son insolubles en agua, pero cuando se calientan en agua, los gránulos de almidón nativos comienzan a hincharse cuando hay suficiente energía térmica para superar las fuerzas de unión de las moléculas de almidón. Con el calentamiento continuo, el almidón se hincha a veces su volumen original. La fricción entre estos gránulos hinchados es el principal factor que contribuye a la viscosidad de la pasta de almidón.

- 45 La composición nutricional de la presente divulgación puede comprender almidones nativos o modificados, tales como, por ejemplo, almidón de maíz ceroso, almidón de arroz ceroso, almidón de maíz, almidón de arroz, almidón de patata, almidón de tapioca, almidón de trigo o cualquier mezcla de los mismos. Generalmente, el almidón de maíz común comprende aproximadamente el 25% de amilosa, mientras que el almidón de maíz ceroso está compuesto casi por completo de amilopectina. Mientras tanto, el almidón de patata generalmente comprende aproximadamente 20% de amilosa, el almidón de arroz comprende una proporción de amilosa: amilopectina desde aproximadamente 20:80, y el
- 50 almidón de arroz ceroso comprende solo aproximadamente 2% de amilosa. Además, el almidón de tapioca generalmente comprende desde aproximadamente 15% a aproximadamente 18% de amilosa, y el almidón de trigo tiene un contenido de amilosa desde aproximadamente 25%.

- En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende almidón de maíz ceroso gelatinizado y/o pregelatinizado. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende almidón de tapioca gelatinizado y/o pregelatinizado. También se pueden usar otros almidones gelatinizados o pregelatinizados, tales como almidón de arroz o almidón de patata.
- 55

Adicionalmente, las composiciones nutricionales de la presente divulgación comprenden al menos una fuente de pectina. La fuente de pectina puede comprender cualquier variedad o grado de pectina conocida en la técnica. En algunas realizaciones, la pectina tiene un grado de esterificación de menos del 50% y se clasifica como pectina poco metilada ("LM"). En algunas realizaciones, la pectina tiene un grado de esterificación mayor o igual al 50% y se clasifica como pectina más alta o metilada alta ("HM"). En otras realizaciones más, la pectina es pectina muy baja ("VL"), que tiene un grado de esterificación que es menor que aproximadamente 15%. Además, la composición nutricional de la presente divulgación puede comprender pectina LM, pectina HM, pectina VL o cualquier mezcla de las mismas. La composición nutricional puede incluir pectina que es soluble en agua. Y, como se conoce en la técnica, la solubilidad y la viscosidad de una solución de pectina están relacionadas con el peso molecular, el grado de esterificación, la concentración de la preparación de pectina y el pH y la presencia de contraiones.

Además, la pectina tiene una capacidad única para formar geles. Generalmente, en condiciones similares, el grado de gelificación de una pectina, la temperatura de gelificación y la resistencia del gel son proporcionales entre sí, y cada una es generalmente proporcional al peso molecular de la pectina e inversamente proporcional al grado de esterificación. Por ejemplo, cuando se reduce el pH de una solución de pectina, se reprime la ionización de los grupos carboxilato y, como resultado de perder su carga, las moléculas de sacárido no se repelen entre sí en toda su longitud. De acuerdo con lo anterior, las moléculas de polisacáridos pueden asociarse en una porción de su longitud para formar un gel. A pesar de esto, las pectinas con grados crecientes de metilación se gelificarán a un pH algo mayor porque tienen menos aniones carboxilato a cualquier pH dado. (J.N. Bemiller, *An Introduction to Pectins: Structure and Properties, Chemistry and Function of Pectins*; Chapter 1; 1986.)

La composición nutricional puede comprender un almidón gelatinizado y/o pregelatinizado junto con pectina y/o pectina gelatinizada. Si bien no se desea vincularse a esta o ninguna otra teoría, se cree que el uso de pectina, tal como la pectina LM, que es un hidrocoloide de gran peso molecular, junto con gránulos de almidón, proporciona un efecto sinérgico que aumenta la fricción molecular interna dentro de una matriz de fluido. Los grupos carboxílicos de la pectina también pueden interactuar con los iones de calcio presentes en la composición nutricional, conduciendo de este modo a un aumento de la viscosidad, ya que los grupos carboxílicos de la pectina forman una estructura de gel débil con los iones de calcio, y también con péptidos presentes en la composición nutricional. En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende una proporción de almidón a pectina que está entre aproximadamente 12: 1 y 20: 1, respectivamente. En otras realizaciones, la proporción de almidón a pectina es aproximadamente 17: 1. En algunas realizaciones, la composición nutricional puede comprender entre aproximadamente 0.05 y aproximadamente 2.0% p/p de pectina. En una realización particular, la composición nutricional puede comprender aproximadamente 0.5% p/p de pectina.

Las pectinas para su uso en este documento tienen por lo general un peso molecular máximo de 8,000 Dalton o más. Las pectinas de la presente divulgación tienen un peso molecular máximo preferido de entre 8,000 y aproximadamente 500,000, más preferido está entre aproximadamente 10,000 y aproximadamente 200,000 y lo más preferido está entre aproximadamente 15,000 y aproximadamente 100,000 Dalton. En algunas realizaciones, la pectina de la presente divulgación puede ser pectina hidrolizada. En ciertas realizaciones, la composición nutricional comprende pectina hidrolizada que tiene un peso molecular menor que el de la pectina intacta o no modificada. La pectina hidrolizada de la presente divulgación se puede preparar por cualquier medio conocido en la técnica para reducir el peso molecular. Ejemplos de dichos medios son la hidrólisis química, la hidrólisis enzimática y el cizallamiento mecánico. Un medio preferido para reducir el peso molecular es por hidrólisis alcalina o neutra a temperatura elevada. En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende pectina parcialmente hidrolizada. En ciertas realizaciones, la pectina parcialmente hidrolizada tiene un peso molecular que es menor que el de la pectina intacta o no modificada pero más de 3,300 Dalton.

La composición nutricional puede contener al menos un polisacárido ácido. Un polisacárido ácido, tal como la pectina cargada negativamente, puede inducir un efecto antiadhesivo sobre los patógenos en el tracto gastrointestinal de un sujeto. De hecho, los oligosacáridos ácidos lácteos no humanos derivados de la pectina son capaces de interactuar con la superficie epitelial y se sabe que inhiben la adhesión de patógenos en la superficie epitelial.

En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende al menos un oligosacárido ácido derivado de pectina. Los oligosacáridos ácidos derivados de pectina (pAOS) son el resultado de la pectinólisis enzimática, y el tamaño de un pAOS depende del uso de la enzima y de la duración de la reacción. En tales realizaciones, el pAOS puede afectar beneficiosamente la viscosidad de las heces, la frecuencia de las heces, el pH de las heces y/o la tolerancia de alimentación de un sujeto. La composición nutricional de la presente divulgación puede comprender entre aproximadamente 2 g de pAOS por litro de fórmula y aproximadamente 6 g de pAOS por litro de fórmula. En una realización, la composición nutricional comprende aproximadamente 0.2 g de pAOS/dL, correspondiente a la concentración de oligosacáridos ácidos en leche humana. (Fanaro et al., "Acidic Oligosaccharides from Pectin Hydrolysate as New Component for Infant Formulae: Effect on Intestinal Flora, Stool Characteristics, and pH", *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41: 186-190, August 2005).

En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende hasta aproximadamente 20% p/p de una mezcla de almidón y pectina. En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende hasta aproximadamente 19% de almidón y hasta aproximadamente 1% de pectina. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende

aproximadamente hasta aproximadamente 15% de almidón y hasta aproximadamente 5% de pectina. En otras realizaciones más, la composición nutricional comprende hasta aproximadamente 18% de almidón y hasta aproximadamente 2% de pectina. En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente el 0.05% p/p y aproximadamente el 20% p/p de una mezcla de almidón y pectina. Otras realizaciones incluyen entre aproximadamente el 0.05% y aproximadamente el 19% p/p de almidón y entre aproximadamente el 0.05% y aproximadamente el 1% p/p de pectina. Además, la composición nutricional puede comprender entre aproximadamente 0.05% y aproximadamente 15% p/p de almidón y entre aproximadamente 0.05% y aproximadamente 5% p/p de pectina.

La(s) composición(es) nutricional(s) descrita(s) se pueden proporcionar en cualquier forma conocida en la técnica, tal como un polvo, un gel, una suspensión, una pasta, un sólido, un líquido, un concentrado líquido, un sustituto de leche en polvo que se puede reconstituir o un producto listo para usar. La composición nutricional puede, en ciertas realizaciones, comprender un suplemento nutricional, producto nutricional infantil, fórmula infantil, fortificante de leche humana, leche para niños en crecimiento o cualquier otra composición nutricional diseñada para un lactante o un sujeto pediátrico. Las composiciones nutricionales de la presente divulgación incluyen, por ejemplo, sustancias que promueven la salud, ingeribles por vía oral, que incluyen, por ejemplo, alimentos, bebidas, comprimidos, cápsulas y polvos. Además, la composición nutricional de la presente divulgación se puede estandarizar a un contenido calórico específico, se puede proporcionar como un producto listo para usar, o se puede proporcionar en forma concentrada. En algunas realizaciones, la composición nutricional está en forma de polvo con un tamaño de partícula en el intervalo de 5 µm a 1500 µm, más preferiblemente en el intervalo de 10 µm a 300 µm.

Si la composición nutricional está en forma de un producto listo para usar, la osmolalidad de la composición nutricional puede estar entre aproximadamente 100 y aproximadamente 1100 mOsm/kg de agua, más por lo general entre aproximadamente 200 y aproximadamente 700 mOsm/kg de agua.

Las fuentes apropiadas de grasas o lípidos para la composición nutricional de la presente divulgación pueden ser conocidas o usadas en la técnica, incluidas, pero no se limitan a, fuentes animales, por ejemplo, grasa láctea, mantequilla, grasa de mantequilla, lípido de yema de huevo; fuentes marinas, tales como aceites de pescado, aceites marinos, aceites de células individuales; aceites de plantas y vegetales, tales como aceite de maíz, aceite de canola, aceite de girasol, aceite de soja, aceite de oleína de palma, aceite de coco, aceite de girasol oleico alto, aceite de onagra, aceite de colza, aceite de oliva, aceite de semilla de lino (linaza), aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo alto en oleico, estearina de palma, aceite de semilla de palma, aceite de germen de trigo; aceites y emulsiones de triglicéridos de cadena media y ésteres de ácidos grasos; y cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende al menos una fuente de carbohidrato adicional, es decir, un componente de carbohidrato proporcionado además del componente de almidón mencionado anteriormente. Se pueden usar fuentes adicionales de carbohidratos en la técnica, por ejemplo, lactosa, glucosa, fructosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, sacarosa, almidón, sólidos de jarabe de arroz y similares. La cantidad del componente de carbohidrato adicional en la composición nutricional por lo general puede variar entre aproximadamente 5 g y aproximadamente 25 g/100 kcal. En algunas realizaciones, la cantidad de carbohidrato está entre aproximadamente 6 g y aproximadamente 22 g/100 kcal. En otras realizaciones, la cantidad de carbohidrato está entre aproximadamente 12 g y aproximadamente 14 g/100 kcal. En algunas realizaciones, se prefieren sólidos de jarabe de maíz. Además, los carbohidratos hidrolizados, parcialmente hidrolizados y/o hidrolizados extensamente pueden ser deseables para su inclusión en la composición nutricional debido a su fácil digestibilidad. Específicamente, los carbohidratos hidrolizados tienen menos probabilidades de contener epítomos alérgicos.

Los ejemplos no limitantes de materiales de carbohidratos apropiados para su uso en este documento incluyen almidones hidrolizados o intactos, modificados natural o químicamente, procedentes de maíz, tapioca, arroz o patata, en formas cerosas o no cerosas. Los ejemplos no limitantes de carbohidratos apropiados incluyen diversos almidones hidrolizados caracterizados como almidón de maíz hidrolizado, maltodextrina, maltosa, jarabe de maíz, dextrosa, sólidos de jarabe de maíz, glucosa y diversos otros polímeros de glucosa y combinaciones de los mismos. Los ejemplos no limitantes de otros carbohidratos apropiados incluyen aquellos a los que a menudo se hace referencia como sacarosa, lactosa, fructosa, jarabe de maíz de alta fructosa, oligosacáridos indigeribles tales como fructooligosacáridos y combinaciones de los mismos.

En una realización particular, el componente de carbohidrato adicional de la composición nutricional está compuesto por 100% de lactosa. En otra realización, el componente de carbohidrato adicional comprende entre aproximadamente 0% y 60% de lactosa. En otra realización, el componente de carbohidrato adicional comprende entre aproximadamente 15% y 55% de lactosa. En otra realización más, el componente de carbohidrato adicional comprende entre aproximadamente 20% y 30% de lactosa. En estas realizaciones, la fuente restante de carbohidratos puede ser cualquier carbohidrato conocido en la técnica. En una realización, el componente de carbohidrato comprende aproximadamente 25% de lactosa y aproximadamente 75% de sólidos de jarabe de maíz.

En una realización, la composición nutricional puede contener uno o más probióticos. Cualquier probiótico conocido en la técnica puede ser aceptable en esta realización. En una realización particular, el probiótico se puede seleccionar de cualquier *Lactobacillus* species, *Lactobacillus rhamnosus* GG (número ATCC 53103), *Bifidobacterium* species,

*Bifidobacterium longum* BB536 (BL999, ATCC: BAA-999), *Bifidobacterium longum* AH1206 (NCIMB: 41382), *Bifidobacterium breve* AH1205 (NCIMB: 41387), *Bifidobacterium infantis* 35624 (NCIMB: 41003), y *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12 (DSM No. 10140) o cualquier combinación de los mismos.

5 Si se incluye en la composición, la cantidad del probiótico puede variar desde aproximadamente  $1 \times 10^4$  a aproximadamente  $1 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (ufc) por kg de peso corporal por día. En otra realización, la cantidad del probiótico puede variar desde aproximadamente  $10^6$  a aproximadamente  $10^{10}$  ufc por kg de peso corporal por día. En otra realización más, la cantidad del probiótico puede variar desde aproximadamente  $10^7$  a aproximadamente  $10^9$  ufc por día. En aún otra realización, la cantidad del probiótico puede ser al menos aproximadamente  $10^6$  ufc por día. En ciertas realizaciones, la composición nutricional comprende entre 10 aproximadamente  $1 \times 10^4$  y aproximadamente  $1.5 \times 10^{10}$  ufc de *Lactobacillus rhamnosus* GG por 100 kcal, más preferiblemente desde aproximadamente  $1 \times 10^6$  hasta aproximadamente  $1 \times 10^9$  ufc de *Lactobacillus rhamnosus* GG por 100 kcal.

15 En una realización, el(los) probiótico(s) puede ser viable o no viable. Como se usa en este documento, el término "viable" se refiere a microorganismos vivos. El término "probiótico no viable" o "no viable" significa microorganismos probióticos no vivos, sus componentes celulares y/o metabolitos de los mismos. Tales probióticos no viables pueden haber sido eliminados por calor o inactivados de otro modo, pero conservan la capacidad de influir favorablemente en la salud del huésped. Los probióticos útiles en la presente divulgación pueden ser de origen natural, sintéticos o desarrollarse a través de la manipulación genética de organismos, si tal nueva fuente es ahora conocida o desarrollada posteriormente.

20 La composición nutricional de la divulgación puede contener una fuente de ácido graso poliinsaturado de cadena larga (LCPUFA) que comprende ácido docosahexaenoico. Otros LCPUFA apropiadas incluyen, pero no se limitan a, ácido  $\alpha$ -linoleico, ácido  $\gamma$ -linoleico, ácido linoleico, ácido linolénico, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido araquidónico (ARA).

25 En una realización, especialmente si la composición nutricional es una fórmula infantil, la composición nutricional se complementa con ambas DHA y ARA. En esta realización, la proporción en peso de ARA:DHA puede estar entre aproximadamente 1:3 y aproximadamente 9:1. En una realización particular, la proporción de ARA:DHA es desde aproximadamente 1:2 a aproximadamente 4:1.

La cantidad de ácido graso poliinsaturado de cadena larga en la composición nutricional es ventajosamente al menos aproximadamente 5 mg/100 kcal, y puede variar desde aproximadamente 5 mg/100 kcal hasta aproximadamente 100 mg/100 kcal, más preferiblemente desde aproximadamente 10 mg./100 kcal a aproximadamente 50 mg/100 kcal.

30 La composición nutricional se puede complementar con aceites que contienen DHA y/o ARA usando técnicas estándar conocidas en la técnica. Por ejemplo, se pueden añadir DHA y ARA a la composición reemplazando una cantidad equivalente de un aceite, tal como aceite de girasol alto en oleico, normalmente presente en la composición. Como otro ejemplo, los aceites que contienen DHA y ARA se pueden añadir a la composición reemplazando una cantidad equivalente del resto de la mezcla de grasas total normalmente presente en la composición sin DHA y ARA.

35 Si se utiliza, la fuente de DHA y/o ARA puede ser cualquier fuente conocida en la técnica, tal como aceite marino, aceite de pescado, aceite de células individuales, lípido de yema de huevo y lípido cerebral. En algunas realizaciones, el DHA y el ARA provienen de aceites Martek de una sola célula, DHASCO® y ARASCO®, o variaciones de los mismos. El DHA y el ARA pueden estar en forma natural, siempre que el resto de la fuente de LCPUFA no produzca ningún efecto perjudicial sustancial en el lactante. Alternativamente, el DHA y el ARA se pueden usar en forma refinada.

40 En una realización, las fuentes de DHA y ARA son aceites de células individuales como se enseña en la Patente de los Estados Unidos Nos. 5,374,567; 5,550,156; y 5,397,591. Sin embargo, la presente divulgación no está limitada solo a tales aceites.

45 Además, algunas realizaciones de la composición nutricional pueden imitar ciertas características de la leche materna humana. Sin embargo, para cumplir los requisitos nutricionales específicos de algunos sujetos, la composición nutricional puede comprender una cantidad mayor de algunos componentes nutricionales que la leche humana. Por ejemplo, la composición nutricional puede comprender una cantidad mayor de DHA que la leche materna humana. De acuerdo con lo anterior, el nivel mejorado de DHA de la composición nutricional puede compensar un déficit de DHA nutricional existente.

50 Como se indicó, la composición nutricional descrita puede comprender una fuente de  $\beta$ -glucano. Los glucanos son polisacáridos, específicamente polímeros de glucosa, que se producen de forma natural y se pueden encontrar en las paredes celulares de bacterias, levaduras, hongos y plantas. Los betaglucanos ( $\beta$ -glucanos) son en sí mismos un subconjunto diverso de polímeros de glucosa, que están formados por cadenas de monómeros de glucosa unidas mediante enlaces glicosídicos de tipo beta para formar carbohidratos complejos.

- Los  $\beta$ -1,3-glucanos son polímeros de carbohidratos purificados de, por ejemplo, levadura, hongo, bacterias, algas o cereales. (Stone BA, Clarke AE. Chemistry and Biology of (1-3)-Beta-Glucans. London:Portland Press Ltd; 1993). La estructura química del  $\beta$ -1,3-glucano depende de la fuente del  $\beta$ -1, 3-glucano. Además, diversos parámetros físicoquímicos, tales como solubilidad, estructura primaria, peso molecular y ramificación, juegan un papel en las actividades biológicas de los  $\beta$ -1,3-glucanos. (Yadomae T., Structure and biological activities of fungal beta-1,3-glucans. Yakugaku Zasshi. 2000;120:413-431.)
- Los  $\beta$ -1,3-glucanos son polisacáridos de origen natural, con o sin cadenas laterales de  $\beta$ -1,6-glucosa que se encuentran en las paredes celulares de una variedad de plantas, levaduras, hongos y bacterias. Los  $\beta$ -1,3; 1,6-glucanos son aquellos que contienen unidades de glucosa con (1,3) enlaces que tienen cadenas laterales unidas en la(s) posición(es) (1,6)(s). Los glucanos  $\beta$ -1,3; 1,6 son un grupo heterogéneo de polímeros de glucosa que comparten características comunes estructurales, incluida un esqueleto de unidades de glucosa de cadena lineal unidas por un enlace  $\beta$ -1,3 con ramas de glucosa unidas por  $\beta$ -1,6 que se extienden de este esqueleto. Si bien esta es la estructura básica para la clase de  $\beta$ -glucanos descrita actualmente, pueden existir algunas variaciones. Por ejemplo, ciertos  $\beta$ -glucanos de levadura tienen regiones adicionales de ramificación de  $\beta$  (1,3) que se extienden desde las ramas  $\beta$  (1,6), que añaden complejidad adicional a sus respectivas estructuras.
- Los  $\beta$ -glucanos derivados de la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*, están formados por cadenas de moléculas de D-glucosa conectadas en las posiciones 1 y 3, que tienen cadenas laterales de glucosa unidas en las posiciones 1 y 6. El  $\beta$ -glucano derivado de levadura es un azúcar complejo insoluble similar a la fibra que tiene la estructura general de una cadena lineal de unidades de glucosa con un esqueleto  $\beta$ -1,3 intercalado con cadenas laterales  $\beta$ -1,6 que generalmente tienen 6-8 unidades de glucosa de longitud. Más específicamente, el  $\beta$ -glucano derivado de la levadura de panadería es poli-(1,6)- $\beta$ -D-glucopiranosil-(1,3)- $\beta$ -D-glucopiranososa.
- Adicionalmente, los  $\beta$ -glucanos son bien tolerados y no producen ni causan exceso de gas, distensión abdominal, hinchazón o diarrea en sujetos pediátricos. La adición de  $\beta$ -glucano a una composición nutricional para un sujeto pediátrico, tal como una fórmula infantil, leche para niños en crecimiento u otro producto nutricional para niños, mejorará la respuesta inmune del sujeto al aumentar la resistencia contra patógenos invasores y por lo tanto mantener o mejorar la salud general.
- La composición nutricional de la presente divulgación comprende  $\beta$ -glucano. En algunas realizaciones, el 6-glucano es  $\beta$ -1,3; 1,6-glucano. En algunas realizaciones, el  $\beta$ -1,3; 1,6-glucano se deriva de la levadura de panadería. La composición nutricional puede comprender  $\beta$ -glucano de partícula de glucano entera,  $\beta$ -glucano en partículas, PGG-glucano (poli-1,6- $\beta$ -D-glucopiranosil-1,3- $\beta$ -D-glucopiranososa) o cualquier mezcla de los mismos.
- En algunas realizaciones, la cantidad de  $\beta$ -glucano presente en la composición está entre aproximadamente 0.010 y aproximadamente 0.080 g por 100 g de composición. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 10 y aproximadamente 30 mg de  $\beta$ -glucano por porción. En otra realización, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 5 y aproximadamente 30 mg de  $\beta$ -glucano por porción de 8 fl. onz. (236.6 mL). En otras realizaciones, la composición nutricional comprende una cantidad de  $\beta$ -glucano suficiente para proporcionar entre aproximadamente 15 mg y aproximadamente 90 mg de  $\beta$ -glucano por día. La composición nutricional se puede administrar en dosis múltiples para alcanzar una cantidad diana de  $\beta$ -glucano administrada al sujeto durante todo el día.
- En algunas realizaciones, la cantidad de  $\beta$ -glucano en la composición nutricional está entre aproximadamente 3 mg y aproximadamente 17 mg por 100 kcal. En otra realización, la cantidad de  $\beta$ -glucano está entre aproximadamente 6 mg y aproximadamente 17 mg por 100 kcal.
- También se pueden añadir una o más vitaminas y/o minerales a la composición nutricional en cantidades suficientes para satisfacer los requerimientos nutricionales diarios de un sujeto. Un experto en el arte debe entender que los requisitos de vitaminas y minerales variarán, por ejemplo, en función de la edad del niño. Por ejemplo, un lactante puede tener diferentes requerimientos de vitaminas y minerales que un niño entre las edades de uno y trece años. De este modo, las realizaciones no pretenden limitar la composición nutricional a un grupo de edad particular sino, más bien, proporcionar un intervalo de componentes vitamínicos y minerales aceptables.
- La composición nutricional puede incluir opcionalmente, pero no se limita a, una o más de las siguientes vitaminas o derivaciones de la misma: vitamina B<sub>1</sub> (tiamina, pirofosfato de tiamina, TPP, trifosfato de tiamina, TTP, clorhidrato de tiamina, mononitrato de tiamina), vitamina B<sub>2</sub> (riboflavina, mononucleótido de flavina, FMN, dinucleótido de flavina y adenina, FAD, lactoflavina, ovoflavina), vitamina B<sub>3</sub> (niacina, ácido nicotínico, nicotinamida, niacinamida, dinucleótido de adenina nicotinamida, NAD, mononucleótido de ácido nicotínico, NicMN, ácido piridina-3-carboxílico), triptófano precursor de vitamina B<sub>3</sub>, vitamina B<sub>6</sub> (piridoxina, piridoxal, piridoxamina, clorhidrato de piridoxina), ácido pantoténico (pantotenato, pantenol), folato (ácido fólico, folacina, ácido pteroilglutámico), vitamina B<sub>12</sub> (cobalamina, metilcobalamina, desoxiadenosilcobalamina, cianocobalamina, hidroxicobalamina, adenosilcobalamina), biotina, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina A (retinol, acetato de retinilo, palmitato de retinilo, ésteres de retinilo con otros ácidos grasos de cadena larga, retina, ácido retinoico, ésteres de retinol), vitamina D (calciferol, colecalciferol, vitamina D<sub>3</sub>, 1,25-

dihidroxitamina D), vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol, acetato de  $\alpha$ -tocoferol, succinato de  $\alpha$ -tocoferol, nicotinato de  $\alpha$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocoferol), vitamina K (vitamina K<sub>1</sub>, filoquinona, naftoquinona, vitamina K<sub>2</sub>, menaquinona-7, vitamina K<sub>3</sub>, menaquinona-4, menadiona, menaquinona-8, menaquinona-8H, menaquinona-9, menaquinona-9H, menaquinona-10, menaquinona-11, menaquinona-12, menaquinona-13), colina, inositol,  $\beta$ -caroteno y cualquier combinación de los mismos.

5 Además, la composición nutricional puede incluir opcionalmente, pero no se limita a, uno de los siguientes minerales o derivados de los mismos: boro, calcio, acetato de calcio, gluconato de calcio, cloruro de calcio, lactato de calcio, fosfato de calcio, sulfato de calcio, cloruro, cromo, cloruro de cromo, picolonato de cromo, cobre, sulfato de cobre, gluconato de cobre, sulfato cúprico, fluoruro, hierro, hierro carbonilo, hierro férrico, fumarato ferroso, ortofosfato férrico, trituración de hierro, hierro polisacárido, yoduro, yodo, magnesio, carbonato de magnesio, hidróxido de magnesio, óxido de magnesio, estearato de magnesio, sulfato de magnesio, manganeso, molibdeno, fósforo, potasio, fosfato de potasio, yoduro de potasio, cloruro de potasio, acetato de potasio, selenio, azufre, sodio, docusato de sodio, cloruro de sodio, selenato de sodio, molibdato de sodio, zinc, óxido de zinc, sulfato de zinc y mezclas de los mismos. Los derivados de ejemplo no limitantes de compuestos minerales incluyen sales, sales alcalinas, ésteres y quelatos de cualquier compuesto mineral.

10 Los minerales se pueden añadir a composiciones nutricionales en forma de sales tales como fosfato de calcio, fosfato de glicerol y calcio, citrato de sodio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, fosfato de magnesio, sulfato ferroso, sulfato de zinc, sulfato cúprico, sulfato de manganeso y selenito de sodio. Se pueden añadir vitaminas y minerales adicionales como se conoce en la técnica.

15 En una realización, la composición nutricional puede contener entre aproximadamente 10 y aproximadamente 50% de la recomendación dietética máxima para cualquier país dado, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 50% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción de vitaminas A, C y E, zinc, hierro, yodo, selenio y colina. En otra realización, la composición nutricional de los niños puede proporcionar aproximadamente 10-30% de la recomendación dietética máxima para cualquier país dado, o aproximadamente 10-30% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción de vitaminas B. En otra realización más, los niveles de vitamina D, calcio, magnesio, fósforo y potasio en el producto nutricional de los niños pueden corresponderse con los niveles promedio encontrados en la leche. En otras realizaciones, otros nutrientes en la composición nutricional de los niños pueden estar presentes en aproximadamente el 20% de la recomendación dietética máxima para cualquier país dado, o aproximadamente el 20% de la recomendación dietética promedio para un grupo de países, por porción.

20 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden incluir opcionalmente uno o más de los siguientes agentes aromatizantes, que incluyen, pero no se limitan a, extractos aromatizados, aceites volátiles, aromatizantes de cacao o chocolate, aromatizantes de mantequilla de maní, migas de galleta, vainilla o cualquier otro saborizante disponibles en el mercado. Ejemplos de saborizantes útiles incluyen, pero no se limitan a, extracto puro de anís, extracto de imitación a plátano, extracto de imitación a cereza, extracto de chocolate, extracto de limón puro, extracto de naranja puro, extracto de menta puro, miel, extracto de imitación a piña, extracto de imitación a ron, extracto de imitación a fresa o extracto de vainilla; o aceites volátiles, tales como aceite de bálsamo, aceite de laurel, aceite de bergamota, aceite de madera de cedro, aceite de cereza, aceite de canela, aceite de clavo de olor o aceite de menta; mantequilla de maní, saborizante de chocolate, miga de galleta de vainilla, sirope de caramelo, caramelo y mezclas de los mismos. Las cantidades de agente aromatizante pueden variar mucho dependiendo del agente aromatizante usado. El tipo y la cantidad de agente aromatizante se pueden seleccionar como se conoce en la técnica.

30 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden incluir opcionalmente uno o más emulsionantes que se pueden añadir para la estabilidad del producto final. Ejemplos de emulsionantes apropiados incluyen, pero no se limitan a, lecitina (por ejemplo, de huevo o soja), alfa lactalbúmina y/o mono y diglicéridos, y mezclas de los mismos. Otros emulsionantes son fácilmente evidentes para el experto en el arte y la selección de emulsionante(s) apropiado(s) dependerá, en parte, de la formulación y el producto final.

35 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden incluir opcionalmente uno o más conservantes que también se pueden añadir para prolongar la vida útil del producto. Los conservantes apropiados incluyen, pero no se limitan a, sorbato de potasio, sorbato de sodio, benzoato de potasio, benzoato de sodio, EDTA disódico cálcico y mezclas de los mismos.

40 Las composiciones nutricionales de la presente divulgación pueden incluir opcionalmente uno o más estabilizantes. Los estabilizantes apropiados para uso en la práctica de la composición nutricional de la presente divulgación incluyen, pero no se limitan a, goma arábiga, goma ghatti, goma karaya, goma de tragacanto, agar, furcellaran, goma guar, goma gellan, goma de algarroba, pectina, pectina de bajo metoxilo, gelatina, celulosa microcristalina, CMC (carboximetilcelulosa de sodio), metilcelulosa hidroxipropil metil celulosa, hidroxipropil celulosa, DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico de mono y diglicéridos), dextrano, carragenanos y mezclas de los mismos.

45 Las composiciones nutricionales de la divulgación pueden proporcionar un soporte nutricional mínimo, parcial o total. Las composiciones pueden ser suplementos nutricionales o sustitutos de comidas. Las composiciones pueden, pero no necesitan, ser nutricionalmente completas. En una realización, la composición nutricional de la divulgación es nutricionalmente completa y contiene tipos y cantidades apropiados de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. La cantidad de lípido o grasa por lo general puede variar desde aproximadamente 1 a aproximadamente 7

g/100 kcal. La cantidad de proteína por lo general puede variar desde aproximadamente 1 a aproximadamente 7 g/100 kcal. La cantidad de carbohidrato puede variar por lo general desde aproximadamente 6 a aproximadamente 22 g/100 kcal.

5 La composición nutricional de la presente divulgación puede incluir además al menos un fitonutriente adicional, esto es, otro componente fitonutriente además de los componentes de pectina y/o almidón descritos anteriormente. Los fitonutrientes, o sus derivados, formas conjugadas o precursores, que se identifican en la leche humana se prefieren para su inclusión en la composición nutricional. Por lo general, las fuentes dietéticas de carotenoides y polifenoles son absorbidas por una madre lactante y retenidas en la leche, haciéndolas disponibles para los lactantes. La adición de estos fitonutrientes a las fórmulas para lactantes o niños permite que tales fórmulas reflejen la composición y la funcionalidad de la leche humana y promuevan la salud y el bienestar general.

10 Por ejemplo, en algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación puede comprender, en una porción de 8 fl. onz. (236.6 mL), entre aproximadamente 80 y aproximadamente 300 mg de antocianinas, entre aproximadamente 100 y aproximadamente 600 mg de proantocianidinas, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 500 mg de flavan-3-oles, o cualquier combinación o mezcla de los mismos. En otras realizaciones, la composición nutricional comprende extracto de manzana, extracto de semilla de uva, o una combinación o mezcla de los mismos. Además, el al menos un fitonutriente de la composición nutricional se puede derivar de cualquier única o mezcla de frutas, semilla de uva y/o extracto(s) de manzana o té.

15 Para los fines de esta divulgación, se pueden añadir fitonutrientes adicionales a una composición nutricional en forma nativa, purificada, encapsulada y/o modificada química o enzimáticamente a fin de proporcionar las propiedades sensoriales y de estabilidad deseadas. En el caso de la encapsulación, es deseable que los fitonutrientes encapsulados resistan la disolución con agua pero se liberen al alcanzar el intestino delgado. Esto podría lograrse mediante la aplicación de recubrimientos entéricos, tal como el alginato reticulado y otros.

20 Los ejemplos de fitonutrientes adicionales apropiados para la composición nutricional incluyen, pero no se limitan a, antocianinas, proantocianidinas, flavan-3-oles (esto es, catequinas, epicatequinas, etc.), flavanonas, flavonoides, isoflavonoides, estilbenoides (esto es, resveratrol, etc.) proantocianidinas, antocianinas, resveratrol, quercetina, curcumina, y/o cualquier mezcla de los mismos, así como cualquier combinación posible de fitonutrientes en forma purificada o natural. Ciertos componentes, especialmente los componentes basados en plantas de las composiciones nutricionales pueden proporcionar una fuente de fitonutrientes.

25 Algunas cantidades de fitonutrientes pueden estar presentes inherentemente en ingredientes conocidos, tales como aceites naturales, que se usan comúnmente para preparar composiciones nutritivas para sujetos pediátricos. Estos fitonutriente(s) inherente(s) pueden ser, pero no necesariamente se consideran, parte del componente de fitonutrientes descrito en la presente divulgación. En algunas realizaciones, las concentraciones y proporciones de fitonutrientes como se describen en este documento se calculan en base a fuentes de fitonutrientes añadidas e inherentes. En otras realizaciones, las concentraciones y proporciones de fitonutrientes como se describen en este documento se calculan basándose únicamente en fuentes de fitonutrientes añadidas.

30 En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende antocianinas, tales como, por ejemplo, glucósidos de aurantinidina, cianidina, delfinidina, europinidina, luteolinidina, pelargonidina, malvidina, peonidina, petunidina y rosinidina. Estas y otras antocianinas apropiadas para uso en la composición nutricional se encuentran en una variedad de fuentes vegetales. Las antocianinas se pueden derivar de una sola fuente vegetal o una combinación de fuentes vegetales. Ejemplos no limitantes de plantas ricas en antocianinas apropiadas para uso en la composición de la invención incluyen: bayas (acai, uva, arándano, mora azul, arándano rojo, grosella negra, cornijuelo, mora, frambuesa, cereza, grosella roja, arándano rojo, arándano, mora, arándano, serba), maíz morado, patata morada, zanahoria morada, batata roja, col lombarda, berenjena.

35 En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación comprende proantocianidinas, que incluyen, pero no se limitan a, flavan-3-oles y polímeros de flavan-3-oles (por ejemplo, catequinas, epicatequinas) con grados de polimerización en el intervalo de 2 a 11. Tales compuestos se pueden derivar de una única fuente vegetal o una combinación de fuentes vegetales. Ejemplos no limitantes de fuentes vegetales ricas en proantocianidinas apropiadas para su uso en la composición nutricional de la invención incluyen: uva, piel de uva, semilla de uva, té verde, té negro, manzana, corteza de pino, canela, cacao, arándano, arándano rojo, grosella negra, cornijuelo.

40 Los ejemplos no limitantes de flavan-3-oles que son apropiados para su uso en la composición nutricional de la invención incluyen catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina, galato de epicatequina, epicatequina-3-galato, epigalocatequina y galato. Las plantas ricas en flavan-3-oles apropiados incluyen, pero no se limitan a, tés, uvas rojas, cacao, té verde, albaricoque y manzana.

45 Ciertos compuestos polifenólicos, en particular flavan-3-oles, pueden mejorar el aprendizaje y la memoria en un sujeto humano aumentando el flujo sanguíneo cerebral, que se asocia con un aumento y suministro sostenido de energía/nutrientes cerebrales, así como la formación de nuevas neuronas. Los polifenoles también pueden proporcionar acciones neuroprotectoras y pueden aumentar ambas la sinaptogénesis cerebral y la capacidad antioxidante, apoyando

así el desarrollo óptimo del cerebro en los niños más pequeños. Las fuentes preferidas de flavan-3-oles para la composición nutricional incluyen al menos un extracto de manzana, al menos un extracto de semilla de uva o una mezcla de los mismos.

5 Para los extractos de manzana, los flavan-3-oles se descomponen en monómeros que se encuentran en el intervalo de 4% a 20% y los polímeros en el intervalo de 80% a 96%. Para los extractos de semilla de uva, los flavan-3-oles se descomponen en monómeros (aproximadamente 46%) y polímeros (aproximadamente 54%) del total de flavan-3-oles y contenido polifenólico total. El grado preferido de polimerización de flavan-3-oles poliméricos está en el intervalo de entre aproximadamente 2 y 11. Adicionalmente, los extractos de semilla de manzana y uva pueden contener catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epicatequina, galato de epigallocatequina, proantocianidinas poliméricas, estilbenoides (esto es, resveratrol), flavonoles (esto es, quercetina, miricetina) o cualquier mezcla de los mismos. Las  
10 fuentes vegetales ricas en flavan-3-oles incluyen, pero no se limitan a, manzana, semilla de uva, uva, piel de uva, té (verde o negro), corteza de pino, canela, cacao, arándano, arándano rojo, grosella negra, cornijuelo.

15 Se puede administrar una cantidad de flavan-3-oles, incluyendo flavan-3-oles monoméricos, flavan-3-oles poliméricos o una combinación de los mismos, que varía entre aproximadamente 0.01 mg y aproximadamente 450 mg por día. En algunos casos, la cantidad de flavan-3-oles administrados a un lactante o niño puede variar desde aproximadamente 0.01 mg a aproximadamente 170 mg por día, desde aproximadamente 50 a aproximadamente 450 mg por día, o desde aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg por día.

20 En una realización de la divulgación, los flavan-3-oles están presentes en la composición nutricional en una cantidad que varía desde aproximadamente 0.4 a aproximadamente 3.8 mg/g de composición nutricional (aproximadamente 9 a aproximadamente 90 mg/100 kcal). En otra realización, los flavan-3-oles están presentes en una cantidad que varían desde aproximadamente 0.8 a aproximadamente 2.5 mg/g de composición nutricional (aproximadamente 20 a aproximadamente 60 mg/100 kcal).

25 En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación comprende flavanonas. Los ejemplos no limitantes de flavanonas apropiadas incluyen butina, eriodictiol, hesperetina, hesperidina, homerodictilo, isosakuranetin, naringenina, naringina, pinocembrina, poncirina, sakuranetin, sakuranina, esteurina. Las fuentes vegetales ricas en flavanonas incluyen, pero no se limitan a, naranja, mandarina, pomelo, limón y lima. La composición nutricional se puede formular para suministrar entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 150 mg de flavanonas por día.

30 Además, la composición nutricional también puede comprender flavonoles. Se pueden usar flavonoles de extractos de plantas o algas. Los flavonoles, tales como ishrhametina, campferol, miricetina, quercetina, se pueden incluir en la composición nutricional en cantidades suficientes para administrar entre aproximadamente 0.01 y 150 mg por día a un sujeto.

35 El componente de fitonutrientes de la composición nutricional también puede comprender fitonutrientes que se han identificado en la leche humana, que incluyen, pero no se limitan a, naringenina, hesperetina, antocianinas, quercetina, campferol, epicatequina, epigallocatequina, epicatecatolato, epigallocatequina-galato o cualquier combinación de los mismos. En ciertas realizaciones, la composición nutricional comprende entre aproximadamente 50 y aproximadamente 2000 nmol/L de epicatequina, entre aproximadamente 40 y aproximadamente 2000 nmol/L de epicatequina galato, entre aproximadamente 100 y aproximadamente 4000 nmol/L de epigallocatequina galato, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 2000 nmol/L de naringenina, entre aproximadamente 5 y aproximadamente 500 nmol/L de campferol, entre aproximadamente 40 y aproximadamente 4000 nmol/L de hesperetina, entre aproximadamente 25 y  
40 aproximadamente 2000 nmol/L de antocianinas, entre aproximadamente 25 y aproximadamente 500 nmol/L de quercetina, o una mezcla de los mismos. Adicionalmente, la composición nutricional puede comprender el (los) metabolito(s) de un fitonutriente o de su compuesto original, o puede comprender otras clases de fitonutrientes dietéticos, tales como glucosinolato o sulforafano.

45 En ciertas realizaciones, la composición nutricional comprende carotenoides, tales como luteína, zeaxantina, astaxantina, licopeno, betacaroteno, alfacaroteno, gammacaroteno y/o betacriptoxantina. Las fuentes vegetales ricas en carotenoides incluyen, pero no se limitan a, kiwi, uvas, cítricos, tomates, sandías, papayas y otras frutas rojas, o verduras oscuras, tal como la col rizada, espinaca, nabo, col rizada, lechuga romana, brócoli, calabacín, guisantes de jardín y coles de Bruselas, espinacas, zanahorias.

50 Los humanos no pueden sintetizar carotenoides, pero se han identificado más de 34 carotenoides en la leche materna humana, incluyendo isómeros y metabolitos de ciertos carotenoides. Además de su presencia en la leche materna, carotenoides dietéticos, tal como alfa y betacaroteno, licopeno, luteína, zeaxantina, astaxantina y criptoxantina están presentes en el suero de mujeres lactantes y lactantes amamantados. Se ha informado que los carotenoides en general mejoran la comunicación de célula a célula, promueven la función inmune, apoyan la salud respiratoria saludable, protegen la piel del daño de la luz UV y se han relacionado con un menor riesgo de ciertos tipos de cáncer y mortalidad por todas las causas. Adicionalmente, las fuentes dietéticas de carotenoides y/o polifenoles son absorbidas por sujetos  
55 humanos, acumuladas y retenidas en la leche materna, haciéndolas disponibles para lactantes. De este modo, la adición de fitonutrientes a las fórmulas infantiles o productos infantiles acercaría las fórmulas en composición y funcionalidad a la leche humana.

- Los flavonoides, como un todo, también se pueden incluir en la composición nutricional, ya que los flavonoides no pueden ser sintetizados por humanos. Además, los flavonoides de extractos de plantas o algas pueden ser útiles en las formas de monómero, dímero y/o polímero. En algunas realizaciones, la composición nutricional comprende niveles de formas monoméricas de flavonoides similares a los de la leche humana durante los primeros tres meses de lactancia.
- 5 Aunque se han identificado agliconas flavonoides (monómeros) en muestras de leche humana, las formas conjugadas de flavonoides y/o sus metabolitos también pueden ser útiles en la composición nutricional. Los flavonoides se pueden añadir en las siguientes formas: glucurónidos, libres, glucurónidos de metilo, sulfatos y sulfatos de metilo.
- La composición nutricional también puede comprender isoflavonoides y/o isoflavonas. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, genisteína (genistina), daidzeína (daidzin), gliciteína, biochanina A, formononetina, coumestrol, irilona, orobol, pseudobaptigenina, anagyroidisoflavona A y B, calycosin, glycitein, irigenin, 5-O-metilgenistein, pratensein, prunetin, psitectorigenin, retusin, tectorigenin, iridin, ononin, puerarin, tectoridin, derrubone, luteone, wighteone, alpinumisoflavone, barbigerone, di-O-metilalpinumisoflavone, y 4'-metil-alpinumisoflavone. Las fuentes vegetales ricas en isoflavonoides incluyen, pero no se limitan a, soja, psoralea, kudzu, altramuza, fava, garbanzo, alfalfa, legumbres y cacahuets. La composición nutricional se puede formular para administrar entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 150 mg de isoflavonas y/o isoflavonoides por día.
- 10 La composición nutricional también puede comprender isoflavonoides y/o isoflavonas. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, genisteína (genistina), daidzeína (daidzin), gliciteína, biochanina A, formononetina, coumestrol, irilona, orobol, pseudobaptigenina, anagyroidisoflavona A y B, calycosin, glycitein, irigenin, 5-O-metilgenistein, pratensein, prunetin, psitectorigenin, retusin, tectorigenin, iridin, ononin, puerarin, tectoridin, derrubone, luteone, wighteone, alpinumisoflavone, barbigerone, di-O-metilalpinumisoflavone, y 4'-metil-alpinumisoflavone. Las fuentes vegetales ricas en isoflavonoides incluyen, pero no se limitan a, soja, psoralea, kudzu, altramuza, fava, garbanzo, alfalfa, legumbres y cacahuets. La composición nutricional se puede formular para administrar entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 150 mg de isoflavonas y/o isoflavonoides por día.
- 15 En una realización, la(s) composición(es) nutricional(es) de la presente divulgación comprenden una cantidad eficaz de colina. La colina es un nutriente que es esencial para la función normal de las células. Es un precursor de los fosfolípidos de membrana y acelera la síntesis y liberación de acetilcolina, un neurotransmisor implicado en el almacenamiento de memoria. Además, aunque no desean estar sujetos a esta o ninguna otra teoría, se cree que la colina dietética y el ácido docosahexaenoico (DHA) actúan de forma sinérgica para promover la biosíntesis de la fosfatidilcolina y de este modo ayudar a promover la sinaptogénesis en sujetos humanos. Adicionalmente, la colina y el DHA pueden exhibir el efecto sinérgico de promover la formación de la espina dendrítica, que es importante en el mantenimiento de las conexiones sinápticas establecidas. En algunas realizaciones, la(s) composición(es) nutricional(es) de la presente divulgación incluye(n) una cantidad eficaz de colina, que es aproximadamente 20 mg de colina por porción de 8 fl. onz. (236.6 mL) a aproximadamente 100 mg por porción de 8 fl. onz. (236.6 mL).
- 20 Además, en algunas realizaciones, la composición nutricional es nutricionalmente completa, que contiene tipos apropiados y cantidades de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales para ser la única fuente de nutrición del sujeto. De hecho, la composición nutricional puede incluir opcionalmente cualquier número de proteínas, péptidos, aminoácidos, ácidos grasos, probióticos y/o sus subproductos metabólicos, prebióticos, carbohidratos y cualquier otro nutriente u otro compuesto que pueda proporcionar muchos beneficios nutricionales y fisiológicos a un sujeto. Además, la composición nutricional de la presente divulgación puede comprender aromatizantes, potenciadores del sabor, edulcorantes, pigmentos, vitaminas, minerales, ingredientes terapéuticos, ingredientes alimentarios funcionales, ingredientes alimentarios, ingredientes de procesamiento o combinaciones de los mismos.
- 25 La composición nutricional se puede expulsar directamente en el tracto intestinal de un sujeto. En algunas realizaciones, la composición nutricional se expulsa directamente al intestino. En algunas realizaciones, la composición se puede formular para ser consumida o administrada por vía enteral bajo la supervisión de un médico y puede estar destinada al manejo dietético específico de una enfermedad o afección, tal como enfermedad celíaca y/o alergia a alimentos, para la cual los requisitos nutricionales distintivos, basados en principios científicos reconocidos, se establecen mediante evaluación médica.
- 30 La composición nutricional de la presente divulgación no está limitada a las composiciones que comprenden nutrientes específicamente enumerados en este documento. Todos los nutrientes se pueden suministrar como parte de la composición con el fin de satisfacer las necesidades nutricionales y/o para optimizar el estado nutricional en un sujeto.
- En algunas realizaciones, la composición nutricional se puede administrar a un lactante desde el nacimiento hasta un momento que coincida con la gestación a término completo. En algunas realizaciones, la composición nutricional se puede administrar a un lactante hasta al menos aproximadamente tres meses de edad corregida. En otra realización, la composición nutricional se puede administrar a un sujeto siempre que sea necesario para corregir las deficiencias nutricionales. En otra realización más, la composición nutricional se puede administrar a un lactante desde el nacimiento hasta al menos aproximadamente seis meses de edad corregida. En otra realización más, la composición nutricional se puede administrar a un lactante desde el nacimiento hasta al menos aproximadamente un año corregida.
- 35 La composición nutricional de la presente divulgación se puede estandarizar a un contenido calórico específico, se puede proporcionar como un producto listo para usar, o se puede proporcionar en forma concentrada.
- En algunas realizaciones, la composición nutricional de la presente divulgación es una leche para niños en crecimiento. Las leches para niños en crecimiento son bebidas enriquecidas a base de leche destinadas a niños mayores de 1 año (generalmente de 1 a 3 años, de 4 a 6 años o de 1 a 6 años). No son alimentos médicos y no están destinados a reemplazar comidas o suplementos para tratar una deficiencia nutricional específica. En cambio, las leches para niños en crecimiento están diseñadas con la intención de servir como complemento a una dieta diversa para proporcionar un seguro adicional que permita a los niños obtener ingesta diaria y continua de todas las vitaminas y minerales esenciales,
- 40
- 45
- 50
- 55

macronutrientes más componentes dietéticos funcionales adicionales, tales como nutrientes no esenciales que han pretendido propiedades promotoras de la salud.

5 La composición exacta de una composición nutricional según la presente divulgación puede variar de mercado a mercado, dependiendo de las regulaciones locales y la información de la dieta de la población de interés. En algunas realizaciones, las composiciones nutricionales según la divulgación consisten en una fuente de proteína de la leche, tal como leche entera o desnatada, más azúcar añadido y edulcorantes para lograr las propiedades sensoriales deseadas y vitaminas y minerales añadidos. La composición de grasa se deriva por lo general de las materias primas de la leche. La proteína total se puede dirigir para que coincida con la de la leche humana, la leche de vaca o un valor inferior. El carbohidrato total generalmente está destinado a proporcionar la menor cantidad de azúcar añadida, tal como sacarosa o fructosa, como sea posible para lograr un sabor aceptable. Por lo general, la vitamina A, el calcio y la vitamina D se añaden a niveles que coinciden con la contribución de nutrientes de la leche de vaca regional. De lo contrario, en algunas realizaciones, se pueden añadir vitaminas y minerales a niveles que proporcionan aproximadamente el 20% de la ingesta dietética de referencia (DRI) o el 20% del valor diario (DV) por porción. Además, los valores de los nutrientes pueden variar entre los mercados según las necesidades nutricionales identificadas de la población a la que se destina, las contribuciones de materias primas y las reglamentaciones regionales.

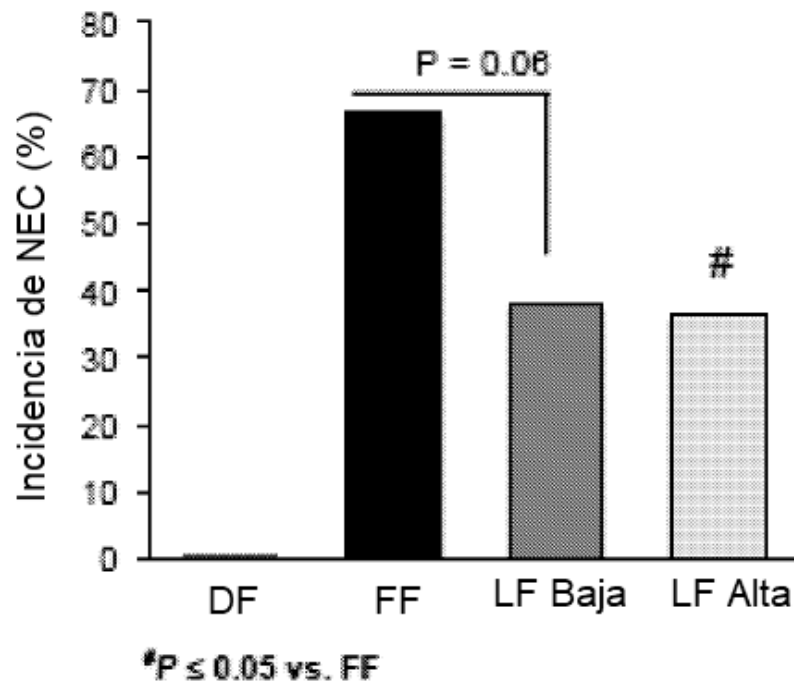
20 En ciertas realizaciones, la composición nutricional es hipoalergénica. En otras realizaciones, la composición nutricional es kosher. En otras realizaciones más, la composición nutricional es un producto no genéticamente modificado. En una realización, la formulación nutricional está libre de sacarosa. La composición nutricional también puede estar libre de lactosa. En otras realizaciones, la composición nutricional no contiene ningún aceite triglicérido de cadena media. En algunas realizaciones, no está presente carragenano en la composición. En otras realizaciones, la composición nutricional está libre de todas las gomas.

25 En algunas realizaciones, la divulgación está dirigida a un régimen de alimentación nutricional por etapas para un sujeto pediátrico, tal como un lactante o niño, que incluye una pluralidad de diferentes composiciones nutricionales según la presente divulgación. Cada composición nutricional comprende una proteína hidrolizada, al menos un almidón pregelatinizado y al menos una pectina. En ciertas realizaciones, las composiciones nutricionales del régimen de alimentación también pueden incluir una fuente de ácido graso poliinsaturado de cadena larga, al menos un prebiótico, una fuente de hierro, una fuente de  $\beta$ -glucano, vitaminas o minerales, luteína, zeaxantina o cualquier otro ingrediente descrito anteriormente. Las composiciones nutricionales descritas en este documento se pueden administrar una vez al día o a través de varias administraciones a lo largo del día.

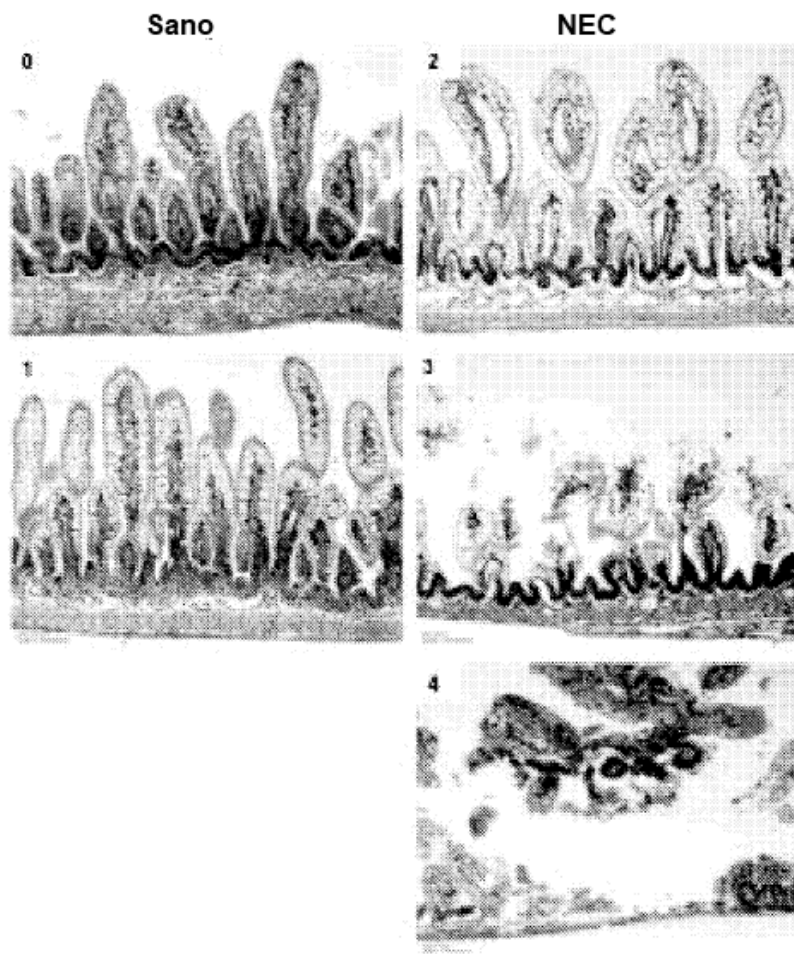
30 Se proporcionan ejemplos para ilustrar algunas realizaciones de la composición nutricional de la presente divulgación, pero no se deben interpretar como ninguna limitación sobre el mismo. Otras realizaciones dentro del alcance de las reivindicaciones en este documento serán evidentes para un experto en el arte a partir de la consideración de la especificación o práctica de la composición nutricional o los métodos descritos en este documento.

### REIVINDICACIONES

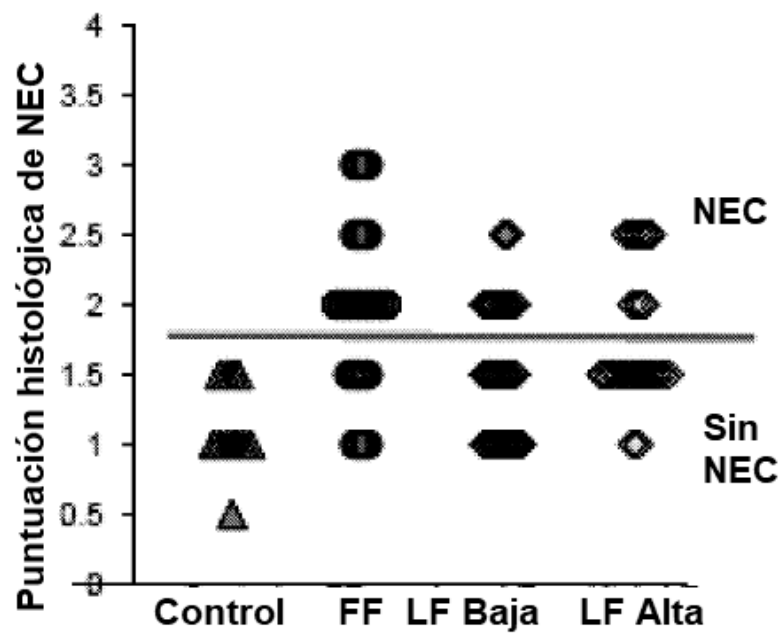
1. Una composición para uso en la reducción de la incidencia de enterocolitis necrosante en un lactante en la que la composición comprende una composición nutricional a base de leche que comprende lactoferrina de una fuente no humana, en la que la lactoferrina está presente a un nivel de 10 mg/100 kcal a 240 mg/100 kcal, y un componente prebiótico que comprende povidexrosa y galactooligosacáridos, en la que la povidexrosa comprende al menos 20% p/p del componente prebiótico.
2. La composición según la reivindicación 1, en la que el componente prebiótico está presente a un nivel de 0.1 g/100 kcal a 1 g/100 kcal.
3. La composición según la reivindicación 1, en la que la lactoferrina es lactoferrina bovina.
4. La composición según la reivindicación 1, en la que la composición es una fórmula infantil.
5. La composición según la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente 3 g/100 kcal a 7 g/100 kcal de una fuente de grasa.
6. La composición según la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente 1 g/100 kcal a 5 g/100 kcal de una fuente de proteína.
7. La composición según la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente al menos un ácido graso poliinsaturado de cadena larga que comprende ácido docosahexaenoico.
8. La composición según la reivindicación 7, en la que la composición comprende además ácido araquidónico.
9. La composición según la reivindicación 8, en la que la composición comprende ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico en una proporción en peso entre 1:3 a 9:1.
10. La composición según la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente al menos un probiótico.
11. La composición según la reivindicación 10, en la que al menos un probiótico comprende *Lactobacillus rhamnosus* GG y está presente en una cantidad desde  $1 \times 10^4$  a  $1.5 \times 10^{10}$  ufc por 100 kcal.



**Fig. 1**



**Fig. 2**



**Fig. 3**