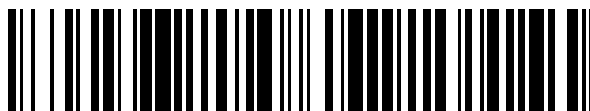


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 648**

51 Int. Cl.:

A23L 33/18 (2006.01)

A23C 9/20 (2006.01)

A23L 33/10 (2006.01)

A23L 33/19 (2006.01)

A23C 9/13 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.09.2005** **PCT/US2005/035637**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.04.2006** **WO06044188**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2005** **E 05801808 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.08.2018** **EP 1811868**

54 Título: **Composiciones y métodos de formulación para fórmulas enterales que contengan ácido siálico**

30 Prioridad:

13.10.2004 US 964290

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

26.10.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

MCMAHON, ROBERT, J.;
MCMAHON, ROBERT, J.;
LOCNISKAR, MARY, FRANCES;
RUMSEY, STEVEN, CHARLES;
ANTHONY, JOSHUA, C. y
WANTANAGORN, RATCHAPONG

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 687 648 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 y métodos de formulación para fórmulas enterales que contengan ácido siálico

Referencia cruzada a patentes relacionados y solicitud de patentes

Esta solicitud es una continuación en parte y reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud de Patente de Estados Unidos copendiente con el número de serie 10/413,508, presentada el 14 de abril de 2003, que se incorpora aquí en la medida en que no entre en conflicto con las divulgaciones de la presente solicitud.

Antecedentes de la invención

(1) Campo de la invención:

La presente invención se relaciona en general a las fórmulas nutricionales para lactantes y niños que contienen ácido siálico y a métodos para fabricar tales fórmulas.

(2) Descripción de la técnica relacionada:

El ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico o NANA) es un componente de origen natural de la leche materna, donde se lo asocia con diversos oligosacáridos y glicoproteínas. Si bien la leche materna contiene cantidades sustanciales de ácido siálico, la mayoría de las fórmulas para lactantes contienen menos del 25% del ácido siálico que se encuentra en el calostro. Además, el 70% del ácido siálico en las fórmulas está enlazado a glicoproteínas, a diferencia de la leche materna humana en la que el 75% del ácido siálico está enlazado a oligosacáridos. Véase Heine, W., et al., Monatsschr Kinderheilkd 141:946-50 (1993), Wang, B., et al., Am J Clin Nutr 74:510-5 (2001), y Nakano, T., et al., Acta Paediatr Taiwan 42:11-17 (2001). No es de extrañar que la acumulación de ácido siálico por los lactantes amamantados sea generalmente mayor que la de los lactantes alimentados con fórmula. Véase Wang, B., et al., J Pediatr 138:914-6 (2001). La evidencia sugiere que el ácido siálico es importante en el desarrollo y la función del cerebro neonatal, donde es un componente principal de los gangliósidos. Véase Carlson, S.E., Am J Clin Nutr 41:720-6 (1985), Morgan, B. and Winnick, M., J Nutr 110:416-24 (1980), Svennerholm, L., et al., Biochim Biophys Acta 1005:109-17 (1989), y Wang, B., et al., Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 435-9 (1998).

Las fórmulas a base de leche de vaca generalmente tienen un bajo contenido de ácido siálico. En un estudio, la concentración de ácido siálico en varias fórmulas de combinación de caseína/suero de leche fue inferior a 200 mg de ácido siálico/L. Además, las fórmulas a base de proteína de soja contienen niveles sustancialmente reducidos de ácido siálico en comparación con la fórmula a base de leche de vaca. Por lo tanto, las fórmulas que están libres de lactosa y a base de proteína de soja mostrarían un contenido de ácido siálico muy bajo.

Existen varias fuentes conocidas de ácido siálico en sus diversas formas conjugadas. Estos incluyen, pero no se limitan a, ácido N-acetilneuramínico (o ácido siálico), el oligosacárido sialilactosa, gangliósidos que contienen ácido siálico y la proteína caseína macropéptida (CMP), también conocida como glicomacropéptido (GMP), y caseinoglicomacropéptido (cGMP).

La adición de ácido siálico o fuentes de ácido siálico a ciertas fórmulas nutricionales se ha mencionado en la técnica. Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos No. 6,506,422 divulga una fórmula nutricional particular que contiene glicomacropéptido de caseína y aminoácidos esenciales complementarios distintos de fenilalanina para la administración a pacientes que padecen fenilketonuria. Los niveles de ácido siálico que se encuentran en las fórmulas para lactantes no se mencionan. El documento JP 02 514375 describe una fórmula para lactantes que comprende cGMP. El documento EP0385118 describe una fórmula (no para lactantes) que comprende cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico.

La patente de los Estados Unidos No. 6,270,827, divulga una formulación que contiene proteínas de la leche humana o factores de resistencia del huésped recombinante, uno de los cuales es kappa-caseína humana recombinante, para complementar las fórmulas para lactantes sintéticas.

La patente de los Estados Unidos No. 4,762,822 divulga el uso de ácido N-acetilneuramínico o gangliósidos que contienen ácido siálico en la fórmula para lactantes para proteger al recién nacido de los organismos gastrointestinales productores de enfermedades.

La solicitud de patente internacional WO 01/60346 A2 divulga una formulación nutricional que contiene los oligosacáridos oligofructosa y sialilactosa como sustancias prebióticas para promover el crecimiento de bifidobacterias en el intestino que pueden usarse junto con la fórmula para lactantes.

Si bien el uso de ácido siálico y fuentes de ácido siálico en fórmula para lactantes se menciona en la técnica anterior, sería útil proporcionar una fórmula para lactantes que tenga cantidades potenciadas de ácido siálico similar a la leche materna, y en particular, para proporcionar fórmula para lactantes que sea nutricionalmente completo. Además, sería

útil proporcionar una fórmula para lactantes que tenga cantidades potenciadas de ácido siálico a la vez que también proporcione un perfil de aminoácidos que sea similar a la leche materna.

Sumario de la invención

La invención está definida por las reivindicaciones.

Brevemente, la presente invención se dirige a una nueva fórmula para lactantes que comprende un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico.

La presente invención también está dirigida a una nueva fórmula para lactantes que comprende un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico y un nivel reducido de treonina.

La presente invención también está dirigida a un nuevo método para producir una fórmula para lactantes que comprende entremezclar un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico con fuentes de proteína, carbohidrato y lípido suficientes para proporcionar una fórmula nutricionalmente completa.

Por consiguiente, se ha encontrado que la presente invención proporciona una fórmula para lactantes que tiene cantidades potenciadas de ácido siálico similar a la leche materna, y en particular, una fórmula para lactantes que es nutricionalmente completa, y también proporciona una fórmula para lactantes que tiene cantidades potenciadas de ácido siálico mientras también proporciona un perfil de aminoácidos que es similar a la leche materna, y en particular, una fórmula para lactantes que tiene un contenido reducido de treonina.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Ahora se hará referencia en detalle a las realizaciones de la invención, uno o más ejemplos de los cuales se exponen a continuación. Cada ejemplo se proporciona a modo de explicación de la invención, no como limitación de la invención. De hecho, será evidente para las personas experimentadas en la técnica que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones en la presente invención sin apartarse del alcance o espíritu de la invención. Por ejemplo, las características ilustradas o descritas como parte de una realización pueden usarse en otra realización para proporcionar una realización adicional.

Por lo tanto, se pretende que la presente invención cubra las modificaciones y variaciones que entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas y sus equivalentes. Otros objetos, características y aspectos de la presente invención se divulgan en o son obvios de la siguiente descripción detallada. Una persona con experiencia ordinaria en la técnica debe entender que la presente discusión es una descripción de realizaciones de ejemplo solamente, y no pretende limitar los aspectos más amplios de la presente invención.

Se ha encontrado que ciertos productos a base de cGMP que tienen niveles mejorados de ácido siálico se pueden usar para producir fórmula para lactantes que tiene un contenido potenciado de ácido siálico. Estas fórmulas son adecuadas para apoyar el crecimiento y desarrollo normal de lactantes y niños. Específicamente, las nuevas fórmulas incluyen una o una combinación de fuente(s) nutricionalmente apropiada(s) de ácido siálico que tiene niveles potenciados de ácido siálico. El nivel de ácido siálico en la fórmula está diseñado para imitar el ácido siálico total encontrado en la leche materna durante el período de 0 a 12 meses de lactancia.

Algunos de los aspectos innovadores de la invención implican el uso de nuevos productos a base de cGMP que contienen niveles de ácido siálico que son más altos que los encontrados normalmente en los productos de cGMP que ahora están disponibles comercialmente. Estos novedosos productos se pueden usar solos o en combinación para lograr niveles de ácido siálico que imitan los encontrados en la leche materna, en base al contenido de ácido siálico de los diversos ingredientes de origen.

Esta invención está dirigida a una composición y un método de formulación de fórmulas lácteas a base de proteínas, tanto con y sin lactosa, fórmulas no lácteas, que incluyen fórmulas a base de proteínas de soja, fórmulas de aminoácidos y fórmulas de proteínas de arroz que contienen ácido siálico en concentraciones comparables a las encontradas en la leche humana. La naturaleza y novedad de la invención implica la selección apropiada de ingredientes que contienen ácido siálico para lograr tanto niveles adecuados de ácido siálico como nutrientes apropiados para fórmulas específicas para lactantes y niños.

Por ejemplo, en las fórmulas a base de proteína de leche de vaca que contienen lactosa, el ácido siálico suplementario en esta composición puede provenir de una o una combinación de fuentes, particularmente ácido siálico libre (ácido neuramínico), 3'-sialilactosa, 6'-sialilactosa, u otro oligosacárido que contiene ácido siálico, y glicomacropéptido de caseína (cGMP) u otra fracción de proteína de leche que contiene ácido siálico, que incluye proteína de suero de leche. El o los conjugados de sialilactosa usados en esta invención pueden reemplazar una parte de la lactosa utilizada habitualmente en estas formulaciones, mientras que el glicomacropéptido de caseína (cGMP) y otras fracciones de proteína de leche pueden reemplazar una parte de la fracción de proteína de la fórmula. En el caso de fórmulas sin lactosa, que también son sin proteína de leche, se pueden usar ácido siálico libre, otras fracciones de proteína de

leche no de vaca que contienen ácido siálico u oligosacáridos que contienen ácido siálico distintos de lactosa. Las concentraciones de grasa, vitaminas y minerales de estas composiciones son por lo demás nutricionalmente apropiadas para los lactantes. La concentración total de ácido siálico en estas formulaciones sería similar a la encontrada en la leche materna y típicamente puede estar dentro de un intervalo de aproximadamente 250 mg/l (como se encuentra en la leche materna humana madura) a aproximadamente 1.500 mg/l (como se encuentra en los calostros humanos).

La presente invención proporciona una formulación nutricionalmente completa que incluye una o más fuentes de ácido siálico, en cantidades que imitan la concentración de ácido siálico encontrada en la leche materna humana. La presente invención proporciona adicionalmente un método para preparar tales formulaciones, en forma de fórmulas a base de proteínas lácteas, tanto con y sin lactosa, fórmulas no lácteas, que incluyen fórmulas a base de proteínas de soja, fórmulas de aminoácidos y fórmulas de proteínas de arroz.

La forma de administración e incorporación de ácido siálico en el método de la presente invención no es crítica, siempre que se administre una cantidad efectiva. Una forma conveniente de administración es agregar ácido siálico a una fórmula para lactantes (incluidas las de lactantes a término y prematuros), fórmula de seguimiento, bebida para niños pequeños, leche, yogur o producto fermentado.

En una realización de la invención, el ácido siálico se administra como parte de una fórmula para lactantes. La fórmula para lactantes para uso en la presente invención es, típicamente, nutricionalmente completa y contiene tipos y cantidades adecuados de lípidos, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. La cantidad de lípidos o grasas puede variar típicamente de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 g/100 kcal. La cantidad de proteínas típicamente puede variar de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 g/100 kcal. La cantidad de carbohidratos típicamente puede variar de aproximadamente 6 a aproximadamente 16 g/100 kcal. Las fuentes de proteínas pueden ser cualquiera usada en la técnica y pueden incluir, por ejemplo, leche desnatada, proteína de suero de leche, caseína, proteína de soja, proteína hidrolizada y aminoácidos. Las fuentes de lípidos pueden ser cualquiera usado en la técnica, como por ejemplo, aceites vegetales como aceite de palma, aceite de soja, aceite de oleína de palma, aceite de maíz, aceite de canola, aceite de coco, aceites de triglicéridos de cadena media, aceite de girasol de oléico alto y aceite de cártamo de oléico alto. Las fuentes de carbohidratos pueden ser cualquiera conocidas en la técnica, tales como, por ejemplo, lactosa, polímeros de glucosa, sólidos de jarabe de maíz, maltodextrinas, sacarosa, almidón y sólidos de jarabe de arroz.

La presente invención también se dirige a un nuevo método para producir una fórmula para lactantes que comprende entremezclar un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico con fuentes de proteína, carbohidrato y lípido suficientes para proporcionar una fórmula nutricionalmente completa. El cGMP de ácido siálico alto puede ser cualquiera de tales productos que se discuten aquí, y las fuentes de proteínas, carbohidratos y lípidos, junto con cualquier otro componente útil y deseable que se encuentran normalmente en fórmulas para lactantes, son bien conocidos en la técnica.

Convenientemente, se pueden usar varias fórmulas para lactantes comercialmente disponibles como la fórmula básica para las adiciones de ácido siálico o fuentes de ácido siálico. Por ejemplo, Enfamil® Lipil con hierro (disponible de Mead Johnson & Company, Evansville, Indiana, Estados Unidos) se puede complementar con una cantidad eficaz de ácido siálico y se puede usar para practicar el método de la presente invención. Las fórmulas para lactantes particulares adecuadas para su uso en la presente invención se describen en los ejemplos aquí.

La proteína total en la formulación de todas las fuentes de proteínas debería ser nutricionalmente apropiada para los lactantes, que típicamente es de 12 g por litro a 16 g por litro y, en algunas realizaciones, puede ser de aproximadamente 14 g por litro. El ácido siálico total en la formulación puede estar entre aproximadamente 250 y aproximadamente 1.500 mg por litro y, en una realización, entre aproximadamente 300 y aproximadamente 600 mg por litro. La formulación puede contener uno o una combinación de los siguientes componentes proteicos que contienen ácido siálico: (1) hasta el 100% de la fracción de proteína de un concentrado de proteína de suero de leche, como es disponible comercialmente de varias fuentes, incluyendo Davisco, Leche de Nueva Zelanda o Granjas Formost, que exhiben aproximadamente 20-30 mg de ácido siálico por gramo de proteína y, por lo tanto, contribuyen entre aproximadamente 140 y aproximadamente 560 mg de ácido siálico por litro de fórmula; (2) hasta el 100% de la fracción de proteína de un producto de leche desnatada en polvo, como es disponible comercialmente de varias fuentes, incluida la Leche de Nueva Zelanda, que presenta aproximadamente 2-10 mg de ácido siálico por gramo de proteína y, por lo tanto, contribuye entre aproximadamente 27 y aproximadamente 139 mg de ácido siálico por litro de fórmula; (3) hasta 6 g por litro de glicomacropéptido de caseína (cGMP) o fracción proteica relacionada, como es disponible comercialmente de diversas fuentes, que contiene aproximadamente 81% de proteína y entre aproximadamente 40 y aproximadamente 300 mg de ácido siálico por gramo de proteína, pero típicamente entre aproximadamente 40 y 60 mg de proteína SA/g, y, por lo tanto, contribuyendo entre aproximadamente 194 y aproximadamente 1.458 mg de ácido siálico por litro de fórmula, pero típicamente entre aproximadamente 194 y 290 mg de SA/litro de fórmula; y (4) hasta aproximadamente 6 g/litro de una fracción de cGMP que tiene un nivel potenciado de ácido siálico.

Cuando se emplea cGMP, el glicomacropéptido de caseína se puede extraer de la leche usando un procesamiento adecuado. Por ejemplo, el glicomacropéptido de caseína se puede extraer del retentato obtenido a partir de la concentración de proteína de suero de leche. Esto se puede hacer eliminando al menos parcialmente la lactosa del retenido y luego añadiendo etanol para provocar la precipitación. El sobrenadante se recolecta y se seca para proporcionar el glicomacropéptido de caseína. La patente de los Estados Unidos No. 5,216,129, que se incorpora aquí en su totalidad por referencia en la medida en que no entre en conflicto con la información aquí descrita, proporciona una descripción más detallada de este proceso. Alternativamente, el cGMP se puede comprar de fuentes comerciales como, por ejemplo, The Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, Tatuani, Morrinsville, Nueva Zelanda, MD Foods Ingredients ambas de DK-6920 Videbaek, Dinamarca o del DMV International de NCB-laan 80, NL-5460 BA Veghel, Países Bajos.

Se ha encontrado que un tipo preferido de cGMP que es útil para las presentes composiciones y métodos es un producto a base de cGMP que tiene una concentración mejorada de ácido siálico. Como se usa aquí, los términos "cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico" significan una fracción de leche que contiene glicomacropéptido de caseína (cGMP) que se ha tratado para aumentar el nivel de ácido siálico, y en el que el nivel de ácido siálico es mayor, por cualquier cantidad, que antes del tratamiento. Los productos de cGMP con niveles mejorados de ácido siálico se describen a continuación en los ejemplos 7 y 8.

Uno de tales productos, un ejemplo del cual se describe en el Ejemplo 7, se puede denominar aquí "cGMP que tiene un nivel potenciado de ácido siálico", o "cGMP de ácido siálico alto". El cGMP de ácido siálico alto tiene un contenido de ácido siálico por encima de aproximadamente 60 mg/gm de proteína. Se prefiere que el contenido de ácido siálico sea superior a aproximadamente 100 mg/gm de proteína, más preferido que sea superior a aproximadamente 150 mg/gm de proteína, y aún más preferido es un contenido de ácido siálico de más de 200 mg/gm de proteína. Típicamente, este producto tiene un contenido de proteína de aproximadamente 50%-60% en peso para un producto de polvo seco, un contenido de ácido siálico de aproximadamente 190-230 mg/gm de proteína, o aproximadamente 100-130 mg/gm de polvo. En comparación, el polvo seco de cGMP regular (por ejemplo, glicomacropéptido disponible de Tatua Co-Operative Dairy Company Limited) contiene 81% de proteína en peso, y tiene un contenido de ácido siálico de aproximadamente 52 mg/gm de proteína o 42 mg/gm de polvo. Es evidente, por lo tanto, que el contenido de ácido siálico del cGMP de ácido siálico alto se ha potenciado sobre el del polvo de glicomacropéptido regular en aproximadamente 3 veces sobre la base del peso del polvo, y aproximadamente de 4 veces sobre la base del contenido de proteína de los productos. Para propósitos de comparación, el suero de leche en polvo electrodializado (ED) contiene aproximadamente 14% de proteína en una base seca, y contiene aproximadamente 30 mg de ácido siálico/g de proteína, o aproximadamente 4,3 mg de ácido siálico/g de polvo.

Una ventaja de utilizar un cGMP con alto contenido de ácido siálico como fuente de proteína en una fórmula para lactantes es que el contenido de ácido siálico de la fórmula puede aumentar sin reemplazar una cantidad excesiva de las fuentes convencionales de proteína que se usan en la fórmula. Esta característica es útil ya que permite una interrupción mínima del perfil de aminoácidos de la proteína de la fórmula.

En una realización particular de un cGMP de ácido siálico alto, el producto tiene un nivel del aminoácido treonina que es más bajo que el nivel de ese aminoácido en el glicomacropéptido del que se deriva el nuevo producto. Como se usa aquí, este tipo de cGMP de ácido siálico alto se denomina "cGMP que tiene un nivel potenciado de ácido siálico y treonina reducida", o "cGMP de ácido siálico alto y treonina reducida". Un ejemplo de este tipo de producto se describe a continuación en el Ejemplo 8.

El cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida tiene un contenido de ácido siálico por encima de aproximadamente 60 mg/gm de proteína y una concentración de treonina que es inferior a aproximadamente 15 g/16 g de nitrógeno. Se prefiere que el contenido de ácido siálico esté por encima de aproximadamente 100 mg/gm de proteína, más preferido por encima de aproximadamente 150 mg/gm de proteína, y aún más preferido es un contenido de ácido siálico por encima de 200 mg/gm de proteína. Típicamente, cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida puede tener un contenido de ácido siálico de desde aproximadamente 85 a aproximadamente 150 mg de ácido siálico (SA)/gramo de polvo, preferiblemente de aproximadamente 90 a aproximadamente 140 mg de SA/g en polvo, que es comparable al contenido de ácido siálico de cGMP de ácido siálico alto. Sin embargo, el contenido de treonina del cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida es solo aproximadamente un cuarto que el de un producto de cGMP comercial. Preferiblemente, el contenido de treonina está por debajo de aproximadamente 10 g/16 g de nitrógeno, más preferiblemente por debajo de aproximadamente 7 g/16 g de nitrógeno, incluso más preferiblemente por debajo de aproximadamente 5 g/16 g de nitrógeno y aún más preferiblemente por debajo de aproximadamente 4 g/16 g de nitrógeno. Expresado de una manera alternativa, el contenido de treonina está por debajo de aproximadamente 8% en peso del peso total de aminoácidos de la proteína, preferiblemente por debajo de aproximadamente 6%, más preferiblemente por debajo de aproximadamente 4% y aún más preferiblemente por debajo de aproximadamente 3%.

Una ventaja proporcionada por este tipo de producto de ácido siálico potenciado es que, además del aumento de ácido siálico con disrupción reducida del perfil de aminoácidos, como se discutió anteriormente, el nivel de treonina de las fuentes de proteína en la fórmula para lactantes puede minimizarse. Esto es deseable en algunas realizaciones para reducir o eliminar el potencial de hipertreoninuria, u otro trastorno causado por, o exacerbado por, altos niveles de treonina en la dieta.

A modo de ejemplo, una fórmula para lactantes de la presente invención puede formularse para tener un contenido de ácido siálico de al menos 200 mg/litro y tener un contenido total de proteína de entre 12 y 16 gramos/litro, de los cuales no más del 40% en peso es proporcionado por un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico. Preferiblemente, dicha fórmula para lactantes tiene un contenido de proteína total de entre 13 y 15 gramos/litro de la cual no proporciona más del 30% en peso mediante un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico, más preferiblemente, la fórmula para lactantes tiene un contenido total de proteína de entre 13 y 15 gramos/litro del cual no más del 15% en peso es proporcionado por un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico.

También como ejemplo, una fórmula para lactantes de la presente invención puede formularse para tener un contenido de ácido siálico de al menos 400 mg/litro y tener un contenido total de proteína de entre 13 y 15 gramos/litro, de los cuales no más del 15% en peso es proporcionado por un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico.

Los siguientes ejemplos describen realizaciones a modo de ejemplo de la invención. Los ejemplos 1-6 son ejemplos de referencia. En los ejemplos, todos los porcentajes se dan en peso, a menos que se indique lo contrario.

Ejemplo 1

Este ejemplo ilustra los componentes nutrientes en una fórmula para lactantes comercial adecuada para la adición de ácido siálico para uso en la presente invención.

Tabla 1: Información de nutrientes para fórmula para lactantes (Enfamil® Lipil con hierro)

Nutrientes	Por 100 Calorías
Calcio, mg	78
Fósforo, mg	53
Magnesio, mg	8
Hierro, mg	1,8
Zinc, mg	1
Manganeso, µg	15
Cobre, µg	75
Yodo, µg	10
Selenio, µg	2,8
Sodio, mg	27
Potasio, mg	108
Cloro, mg	63

Los ingredientes de esta fórmula particular son: suero de leche reducido en minerales, leche desnatada, aceite vegetal (oleína de palma, soja, coco y aceites de girasol con alto contenido de ácido oléico), lactosa y menos del 1%: aceite de mortierella alpina, aceite de crypthocodium cohnii, vitamina A palmitato, vitamina D3, acetato de vitamina E, vitamina K1, hidrocloreto de tiamina, hidrocloreto de vitamina B6, vitamina B12, niacinamida, ácido fólico, pantotenato de calcio, biotina, ascorbato de sodio, inositol, cloruro de calcio, fosfato de calcio, sulfato ferroso, sulfato de zinc, sulfato de manganeso, sulfato cúprico, cloruro de sodio, citrato de sodio, citrato de potasio, hidróxido de potasio, selenito de sodio, taurina, nucleótidos (5'-monofosfato de adenosina, 5'-monofosfato de citidina, 5'-monofosfato de guanosina disódico, 5'-monofosfato de uridina disódico).

Para usar esta fórmula particular para practicar la presente invención, sería necesario añadir, por ejemplo, de aproximadamente 250 mg por litro a aproximadamente 1.500 mg por litro de ingredientes que contienen ácido siálico a la composición descrita en la Tabla 1. Esta cantidad añadida de ácido siálico sería parte de la cantidad total de proteína (proteína total de aproximadamente 2,1 gramos por 100 calorías).

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra una combinación de fuente de proteína particular para un contenido total de ácido siálico de aproximadamente 250 mg por litro. Los ingredientes enumerados en la Tabla 2 se usarían para reemplazar el componente de proteína de la fórmula descrita en la Tabla 1.

5 Tabla 2: Composición A de fuente de proteína

Ingrediente	mg SA/gm proteína	% proteína en ingrediente	g ingrediente/ L	g proteína/ L	mg SA/L
Concentrado de proteína de suero de leche	23,00	35,00	20,26	7,09	163,08
Leche en polvo desnatada, calor bajo	6,37	34,00	15,38	5,23	33,31
cGMP	52,00	81,00	1,45	1,17	61,07
Nota: "SA" en la tabla significa ácido siálico.					

Ejemplo 3

10 Este ejemplo ilustra una combinación de fuente de proteína particular para un contenido total de ácido siálico de aproximadamente 360 mg por litro. Los ingredientes enumerados en la Tabla 3 reemplazan el componente de proteína de la fórmula descrita en la Tabla 1.

Tabla 3: Composición B de fuente de proteína

Ingrediente	mg SA/gm proteína	% proteína en ingrediente	g ingrediente/ L	g proteína/ L	mg SA/L
Concentrado de proteína de suero de leche	23,00	35,00	37,00	12,95	297,85
cGMP	52,00	81,00	1,45	1,17	61,07
Nota: "SA" en la tabla significa ácido siálico.					

15 Ejemplo 4

20 Este ejemplo ilustra una combinación de fuente de proteína particular para un contenido total de ácido siálico de aproximadamente 600 mg por litro. Los ingredientes enumerados en la Tabla 4 reemplazan el componente de proteína de la fórmula descrita en la Tabla 1.

Tabla 4: Composición B de fuente de proteína

Ingrediente	mg SA/gm proteína	% proteína en ingrediente	g ingrediente/ L	g proteína/ L	mg SA/L
Concentrado de proteína de suero de leche	23,00	35,00	13,00	4,55	104,65
cGMP	52,00	81,00	12,00	9,72	505,44
Nota: SA en la tabla hace referencia a ácido sialico					

Ejemplo 5

25 La Tabla 5 ilustra una posible formulación nutricional completa de una fórmula para lactantes con un contenido total de ácido siálico de aproximadamente 250 mg por litro.

Tabla 5: Formulación para lactantes de ejemplo con ácido siálico.

Ingrediente	Peso	Cantidad por 10.000 litros
Lactosa (95% Sólidos)		573.000 kg
Mezcla de grasa		332.500 kg
Concentrado de proteína de suero de leche (36% Proteína, 5,8% ceniza)		202,578 kg
Sólido de leche desnatada (36% Prot., 52% CHO)		153,844 kg
Caseino Glico Macro Péptidos (cGMP, 81,18% Prot.)		14,500 kg
Mono-y diglicéridos		7,233 kg
Fosfato de calcio, Tribásico		6,520 kg
Aceite de ácido araquidónico de célula única		6,485 kg
Premezcla seca de vitaminas para Enfamil AR Líquida		5,250 kg
ácido ascórbico	2924,250g	
Inositol	834,750g	
jarabe de maíz sólido	654,938g	
Taurina	582,750g	
Niacinamida	119,438g	
Pantotenato de calcio	44,730g	
Vitamina B12, 0,1% en almidón	29,400g	
Biotina, 1% Trituración	25,095g	
Hidrocloreuro de Tiamina	13,913g	
Riboflavina	10,238g	
Hidrocloreuro de piridoxina	8,138g	
ácido fólico	2,363g	
Concentrado de Lecitina		3,694 kg
Citrato de Potasio		3,350 kg
Aceite de ácido docosahexaenóico de célula única		3,243 kg
Premezcla de nucleótido para Enfamil en polvo		2,900 kg
Maltodextrina, 15 DE	2552,290g	
Citidina 5'-monofosfato, ácido libre	202,710g	
Uridina 5'-monofosfato, sal disódica	59,740g	
Adenosina 5'-monofosfato, ácido libre	47,357g	
Guanosina 5'-monofosfato, sal disódica	37,903 g	
Carragenano		2,826 kg

Ingrediente	Peso	Cantidad por 10.000 litros
Cloruro de Magnesio		1,657 kg
Cloruro de calcio, Dihidrato		1,200 kg
Cloruro de colina		0,700 kg
Heptahidrato de sulfato ferroso		0,682 kg
Citrato de sodio, Dihidrato, Granular		0,455 kg
Premezcla de minerales traza con trituración de selenita		0,392 kg
Sulfato de Zinc, Monohidrato	276,238g	
Trituración de selenita de sodio, 0,5%	65,907g	
Sulfato cúprico, polvo	29,510g	
Lactosa, triturado A	16,323g	
Sulfato de manganeso, monohidrato	4,022g	
Vitamina A,D,E,K premezcla, Enfamil líquido		0,324 kg
Acetato de Tocoferol	160,882g	
Aceite de soja	139,612g	
Vitamina A Palmitato	17,253g	
Concentrado de colecalciferol	5,715g	
Vitamina K1, Líquido	0,538g	
ácido ascórbico		0,150 kg
L-Carnitina		0,150 kg
agua, Desfluorada, q.s. a		10310,986 kg
Hidróxido de Potasio		---

La Tabla 6 y la Tabla 7 detallan el contenido de componentes específicos de la formulación descrita en la Tabla 5 como un porcentaje de 1) peso a peso, 2) peso a volumen, y 3) calorías. La gravedad específica de esta formulación particular es 1,0310986.

5

Tabla 6: composición de formulación para lactantes.

Componente	% p/p	% p/v
Proteína	1,38	1,42
Grasa	3,50	3,61
Carbohidrato	7,20	7,43
Ceniza	0,37	0,38
Sólidos Totales	12,45	12,84

Tabla 7: Distribución calórica de la fórmula para lactantes

Componente	%
Proteína	8,38

Componente	%
Grasa	47,83
Carbohidrato	43,79

Ejemplo 6

5 La Tabla 8 ilustra el contenido nutricional de la formulación presentada en el Ejemplo 5 por 100 calorías, así como por 100 mililitros de fórmula.

Tabla 8: contenido nutricional de la formulación para lactantes.

	Por 100 Cal	Por 100 ml
Calorías, Cal	100	68
Proteína, g	2,1	1,42
Grasa, g	5,3	3,6
Carbohidrato, g	10,9	7,4
Ácido linoléico, mg	860	580
Ácido Linolénico, mg	80	54
Ácido Araquidónico, mg	34	23
Ácido Docosahexaenóico, mg	17	11,5
Vitamina A, IU	300	200
Vitamina D, IU	60	41
Vitamina E, IU	2	1,35
Vitamina K1, mcg	12	8,1
Tiamina, mcg	120	81
Riboflavina, mcg	140	95
Vitamina B6, mcg	60	41
Vitamina B12, mcg	0,5	0,3
Niacina, mcg	1200	812
Ácido Fólico, mcg	16	10,8
Ácido Pantoténico, mcg	500	340
Biotina, mcg	3	2
Vitamina C, mg	14	9,5
Colina, mg	12	8,1
Inositol, mg	6	4,1
Taurina, mg	6	4,1
L-Carnitina, mg	2	1,35
Calcio, mg	78	53
Fósforo, mg	53	36
Magnesio, mg	8	5,4

Hierro, mg	1,8	1,2
Zinc, mg	1	0,68
Manganeso, mcg	26	17,6
Cobre, mcg	85	57
Yodo, mcg	15	10
Sodio, mg	27	18,3
Potasio, mg	108	73
Cloro, mg	63	43
Selenio, mcg	2,8	1,89
Ácido Siálico, mg	37	25
Proporción Calcio/Fósforo	---	---
Equivalentes de AMP, mq (a)	0,5	0,34
Equivalentes de CMP, mg (a)	2,5	1,69
Equivalentes de GMP, mq (a)	0,3	0,20
Equivalentes de UMP, mg (a)	0,9	0,61
Equivalentes de Nucleótido, mg (a)	4,2	2,84
TPAN-AMP, mg	--	--
TPAN-CMP, mg	--	--
TPAN-GMP, mg	--	--
TPAN-UMP, mg	--	--
Total TPAN, mg	--	--
Proporción TPAN-CMP/TPAN-GMP	--	--
Nota: Suma del nucleótido y el nucleósido correspondiente expresado como los pesos del nucleótido.		

Ejemplo 7.

- 5 Este ilustra la producción de un producto de cGMP que tiene niveles potenciados de ácido siálico.

Una fracción de queso de suero de leche enriquecido en GMP se fracciona mediante el uso de cromatografía de aniones para producir una fracción potenciada en ácido siálico. Este producto exhibe un perfil de aminoácidos similar al de las GMP actualmente disponibles comercialmente (disponibles de Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, 10 Tatanui, Morrinsville, Nueva Zelanda), pero contiene de 1,5-3 veces el contenido de ácido siálico de los productos GMP actualmente disponibles.

La fracción potenciada con ácido siálico puede desalinizarse, si se desea, por electrodiálisis, por ejemplo, y puede secarse para producir un producto de polvo seco, que luego es utilizable para la introducción en una mezcla de fórmula 15 líquida o seca para lactantes. Este producto es un cGMP de ácido siálico alto y está disponible a partir de la fecha de presentación de la presente solicitud de Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, como productos designados como X4738, X4739, X4740 y X4741. El contenido de proteína, el contenido de ácido siálico y el perfil de aminoácidos de esos materiales se describe en la Tabla 9.

20

ES 2 687 648 T3

Tabla 9: perfil de aminoácidos y contenido de ácido siálico de cuatro ejemplos de productos de cGMP con alto contenido de ácido siálico.

Aminoácido	muestras de producto cGMP de ácido siálico alto						
	X4738	X4739	X4740	X4741	Media	Polvo cGMP de	Polvo suero de leche ED de
arginina	1,22	0,96	0,69	0,7	0,89	1,4	
histidina	0,76	0,7	0,59	0,59	0,66	1	
isoleucina	10,36	8,42	11,28	11,51	10,39	11,6	
leucina	4	3,36	3,19	3,21	3,44	4,6	
lisina	7,48	7,91	6,89	7,08	7,34	8,3	
metionina	2	2,04	1,63	1,63	1,83	1,5	
cistina	0,21	0,47	0,13	0,09	0,23	0,2	
fenilalanina	1,54	5,88	1,96	2,08	2,87	1,8	
tirosina	0,35	0,17	0,1	0,09	0,18	0,4	
treonina	13,13	15,16	17,18	17,57	15,76	15,9	
triptofan	0	0	0	0	0,00	0	
valina	8,69	7,55	9,38	9,51	8,78	9,7	
alanina	6,8	6,58	6,41	6,53	6,58	6,6	
Ácido aspártico	10,61	12,12	9,93	10	10,67	11,1	
Ácido glutámico	22,91	24,23	23,28	23,14	23,39	26,2	
glicina	1,37	1,46	1,31	1,34	1,37	1,5	
prolina	11,13	10,19	10,78	9,57	10,42	14,2	
serina	8,14	9,66	8,74	9,06	8,90	8,1	
TOTAL	110,7	116,86	113,47	113,7	113,68	124,1	
% proteína	51,88	49,92	57,87	60,05	54,93	81	14,31
mgSA/gm proteína	188,43	227,25	224,83	215,68	214,05	52	29,92
mgSA/gm polvo	97,76	113,44	130,11	129,52	117,71	42,12	4,28
Media							
Los niveles de aminoácidos se expresan como gramos del aminoácido por 16 gramos de nitrógeno.							
Polvo de cGMP es glicomacropéptido comercial de Tatua Co-Operative Dairy Company Ltd.							
Suero de leche en polvo ED es polvo de suero de leche electrodializado comercial							

Aminoácido	muestras de producto cGMP de ácido siálico alto							
	X4738	X4739	X4740	X4741	Media	Polvo cGMP	de	Polvo suero de leche ED
Las muestras X4738-X4741 son muestras de cGMP con alto contenido de ácido siálico disponible en Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, Tatuani, Morrinsville, Nueva Zelanda.								

Ejemplo 8.

Esto ilustra la producción de un producto de cGMP que tiene niveles mejorados de ácido siálico y bajos niveles de treonina.

Una fracción de queso de suero de leche enriquecido en GMP se somete a una hidrólisis proteolítica parcial seguida de fraccionamiento usando cromatografía de aniones para producir una fracción que se potencia en ácido siálico y tiene un bajo contenido de treonina. Este producto contiene de 1,5 a 3 veces el contenido de ácido siálico de los productos GMP actualmente disponibles, pero el nivel de treonina se reduce a aproximadamente la cuarta parte del material GMP inicial.

La fracción potenciada con ácido siálico, baja de treonina puede desalinizarse, si se desea, por electrodiálisis, por ejemplo, y puede secarse para producir un producto en polvo seco, que luego puede utilizarse para la introducción en una mezcla de fórmula líquida o seca para lactantes. Este producto es un cGMP de alto ácido siálico con treonina reducida y está disponible a partir de la fecha de presentación de la presente solicitud de Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, Tatuani, Morrinsville, Nueva Zelanda, como producto designado como W4733. El contenido de proteína, el contenido de ácido siálico y el perfil de aminoácidos de ese material se describe en la Tabla 10.

Tabla 10: Perfil de aminoácidos y contenido de ácido siálico de cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida.

Aminoácido	cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida		
	W4733	Polvo de cGMP	Polvo de suero de leche ED
arginina	2,3	1,4	
histidina	0	1	
isoleucina	13,1	11,6	
leucina	5,3	4,6	
lisina	3,2	8,3	
metionina	0,7	1,5	
cistina	0,1	0,2	
fenilalanina	0	1,8	
tirosina	0	0,4	
treonina	3,8	15,9	
triptófano	0	0	
valina	16,3	9,7	
alanina	15,9	6,6	
Ácido aspártico	6,3	11,1	

Aminoácido	cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida		
	W4733	Polvo de cGMP	Polvo de suero de leche ED
Ácido glutámico	38,9	26,2	
glicina prolina	2,5	1,5	
	16,9	14,2	
serina	0	8,1	
TOTAL	125,4	124,1	
% proteína		81	14,31
mgSA/gm proteína		52	29,92
mgSA/gm polvo	138,03	42,12	4,28
(análisis repetido)	117,02		
Media	127,525		
Los niveles de aminoácidos se expresan como gramos del aminoácido por 16 gramos de nitrógeno			
cGMP en polvo es glicomacropéptido comercial de Tatua Co-Operative Dairy Company Ltd.			
Polvo de suero de leche ED es polvo de suero de leche electrodializado comercial			
Las muestras W4731, W4733 y W4735 son muestras de cGMP de ácido siálico mejorado con treonina reducida disponible de Tatua Co-Operative Dairy Company Limited, Tatuanui, Morrinsville, Nueva Zelanda.			

Se observa que el nivel de treonina del nuevo producto es aproximadamente una cuarta parte del cGMP comercial. Por consiguiente, se cree que el uso de un cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida en una fórmula para lactantes puede proporcionar una fórmula que tenga un alto nivel de ácido siálico a niveles proteínicos deseados normales de aproximadamente 14 g de proteína/litro, y aún proporcionar un perfil de aminoácidos deseable y bajos niveles de treonina.

Ejemplo 9.

Este ilustra el uso de una fracción de cGMP que tiene niveles potenciados de ácido siálico en una fórmula para lactantes.

El producto de cGMP que tiene niveles mejorados de ácido siálico se puede usar como fuente de proteína en una fórmula para lactantes de la misma manera que un polvo de suero de leche o polvo de cGMP normal. A modo de ejemplo, la Tabla 11 muestra el contenido de ácido siálico que podría esperarse para una fórmula para lactantes en la que el contenido de proteína es suministrado por fuentes convencionales. La cantidad de polvo de cGMP que se usa está limitada para evitar una desviación indebida del perfil de aminoácidos de la proteína que se proporciona a partir de un perfil estándar para lactantes deseable.

Tabla 11: Contenido de ácido siálico de fórmula para lactantes con proteína proporcionada por fuentes convencionales:

Fuente de proteína	mg ácido siálico/ gm proteína	Porcentaje de proteína	gramos proteína/litro	mg ácido siálico /litro
Concentrado de proteína de suero de leche	23	35%	6,82	156,77
Leche desnatada en polvo, calor bajo	6,37	34%	6,25	39,8
Polvo de cGMP	52	81%	1,11	57,62
Total			14,17	254,18

5 El polvo de cGMP que se usa en esta formulación puede reemplazarse por un nuevo producto de cGMP que tenga un nivel mejorado de ácido siálico, como se describió anteriormente en el Ejemplo 7. La Tabla 12 muestra que cuando se hace esto, el contenido de ácido siálico de la formulación es más del doble sin interrupción adicional del perfil de aminoácidos de la proteína.

Tabla 12: Contenido de ácido siálico de fórmula para lactantes con proteína proporcionada por fuentes convencionales más un producto de cGMP que tiene un nivel mejorado de ácido siálico:

Fuente de proteína	mg ácido siálico/ gm proteína	Porcentaje de proteína	gramos proteína/litro	mg ácido siálico/litro
Concentrado de proteína de suero de leche	23	35%	6,82	156,77
Leche desnatada en polvo, calor bajo	6,37	34%	6,25	39,8
Producto cGMP con ácido siálico potenciado	214	54,93%	1,11	237,54
Total			14,17	434,12

10 Si el polvo de cGMP que tiene niveles de ácido siálico potenciados fuera a usarse al doble de los niveles descritos anteriormente a expensas de la leche desnatada en polvo, el contenido de ácido siálico de la fórmula podría aumentarse hasta el nivel que se muestra en la Tabla 13.

15 Tabla 13: Contenido de ácido siálico de fórmula para lactantes con proteína proporcionada por fuentes convencionales más un producto de cGMP con un nivel potenciado de ácido siálico:

Fuente de proteína	mg ácido siálico/ gm proteína	Porcentaje de proteína	gramos proteína/litro	mg ácido siálico/litro
Concentrado de proteína de suero de leche	23	35%	6,82	156,77

Fuente de proteína	mg ácido siálico/gm proteína	Porcentaje de proteína	gramos proteína/litro	mg ácido siálico/litro
Leche desnatada en polvo, calor bajo	6,37	34%	5,14	32,74
Producto cGMP con ácido siálico potenciado	214	54,93%	2,22	475,08
Total			14,18	664,59

5 Todas las referencias citadas en esta especificación, que incluyen, sin limitación, todos los artículos, publicaciones, patentes, solicitudes de patentes, presentaciones, textos, informes, manuscritos, folletos, libros, publicaciones en Internet, artículos de revistas, publicaciones periódicas y similares, se incorporan aquí por referencia a esta especificación en la medida en que no entren en conflicto con la divulgación de esta especificación. La discusión de las referencias aquí está destinada simplemente a resumir las afirmaciones hechas por sus autores y no se admite que cualquier referencia constituya técnica anterior. Los solicitantes se reservan el derecho de cuestionar la exactitud y pertinencia de las referencias citadas.

REIVINDICACIONES

1. Una fórmula para lactantes nutricionalmente completa que comprende cGMP y un contenido total de proteína de entre 12 y 16 gramos/litro, de los cuales no más del 40% en peso es proporcionada por una cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico, en el que la concentración de ácido siálico del cGMP está por encima de aproximadamente 60 mg de ácido siálico por gramo.
2. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, que tiene un nivel de ácido siálico de al menos aproximadamente 200 mg/litro.
3. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico comprende cGMP de ácido siálico alto con treonina reducida en la que la cGMP tiene más de aproximadamente 60 mg de ácido siálico por gramo y el contenido de treonina es menor que aproximadamente 10 gramos por 16 gramos de nitrógeno.
4. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 3, que tiene un nivel de ácido siálico de al menos aproximadamente 250 mg/litro.
5. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 4, que tiene un contenido de proteína total de entre 13 y 15 gramos/litro de la cual no más del 30% en peso es proporcionada por un cGMP que tiene una concentración de ácido siálico de aproximadamente 60 mg de ácido siálico por gramo y con un contenido de treonina de menos de 7 gramos por 16 gramos de nitrógeno.
6. La fórmula para lactantes de acuerdo con la reivindicación 5, que tiene un contenido de proteína total de aproximadamente 14 gramos/litro de la cual no más del 4% en peso es treonina y que tiene un contenido de ácido siálico de al menos 400 mg/litro.
7. Un método para producir una fórmula para lactantes nutricionalmente completa que comprende entremezclar un cGMP que tiene una concentración potenciada de ácido siálico con fuentes de proteína, carbohidrato y lípido suficientes para proporcionar una fórmula nutricionalmente completa, en la que el cGMP tiene por encima de aproximadamente 60 mg de ácido siálico por gramo, en el que la fórmula para lactantes tiene un contenido de proteína total de entre 12 y 16 gramos/litro, de los cuales no más del 40 % en peso es proporcionado por cGMP.