

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 084**

51 Int. Cl.:

A61P 31/14 (2006.01)

A61K 31/201 (2006.01)

A61K 38/40 (2006.01)

A61K 35/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.08.2008** **PCT/NZ2008/000199**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.02.2009** **WO09020405**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2008** **E 08826884 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.10.2018** **EP 2173364**

54 Título: **Tratamiento o prevención de la infección por rotavirus**

30 Prioridad:

09.08.2007 NZ 56052407

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.02.2019

73 Titular/es:

FONTERRA CO-OPERATIVE GROUP LIMITED
(100.0%)

109 Fanshawe Street
Auckland Central, Auckland 1010, NZ

72 Inventor/es:

MCCONNELL, MICHELLE AVRIL;
FITZPATRICK, CLARE ELIZABETH ANN y
MACGIBBON, ALASTAIR KENNETH HUGH

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 699 084 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

Tratamiento o prevención de la infección por rotavirus

Campo de la invención

La presente invención se refiere al uso de una o más composiciones de ácido linoleico conjugado (CLA), de grasa de leche con alto contenido de CLA, o una o más composiciones de lípidos de leche bovina para el tratamiento o la prevención de la infección por rotavirus.

Antecedentes

La leche es un fluido biológico rico que proporciona una importante fuente de nutrición en el neonato. Además, contiene agentes para el desarrollo, función y soporte del sistema inmunitario, que son necesarios para el desarrollo del lactante.

Los rotavirus son virus del Grupo III (dsRNA) de la familia Reoviridae y son la causa de aproximadamente 138 millones de casos de diarrea infantil al año. El 95 % de los niños experimentará un episodio de diarrea por rotavirus antes de cumplir cinco años. En todo el mundo, la infección por rotavirus es la causa más común de hospitalización por diarrea (Parashar *et al* 2003). Se estima que 1205 niños mueren a causa de la enfermedad por rotavirus cada día. Uno de cada cinco niños visitará al médico con rotavirus, uno de cada 65 niños necesitará hospitalización y aproximadamente un niño de cada 293 morirá. La mayoría de las muertes ocurren en el subcontinente indio, en el África subsahariana y en América del Sur (Parashar *et al* 2003).

Las partículas de rotavirus están formadas por tres capas concéntricas de proteínas. Dos proteínas de la capa externa del virus, VP4 y VP7, están implicadas en la interacción inicial del virus con la célula hospedante. La VP4 forma picos que se extienden desde la superficie de la partícula viral y ha sido identificada como el polipéptido de unión viral, mientras que la VP7 es una glucoproteína de unión al calcio que forma la superficie lisa del virión y se cree que está implicada en el proceso posterior a la unión (Mendez *et al* 1999, Isa *et al* 2006). La entrada en la célula es un proceso complejo que incluye interacciones entre las proteínas de la capa externa del virus y las moléculas de la superficie celular. *In vivo*, los rotavirus infectan a través de los enterocitos maduros de las vellosidades del intestino delgado, mientras que *in vitro* los rotavirus se unen a una variedad de líneas celulares, pero sólo algunas de éstas llegan a ser infectadas. Isa *et al* (2006) informa que la unión inicial de un virus a la superficie celular es promiscua y que la interacción subsiguiente del virus con receptores específicos posteriores a la unión es responsable de la entrada del virus en la célula.

Los rotavirus se clasifican en dos tipos en base a su capacidad para infectar células que han sido tratadas con neuraminidasa para eliminar los residuos de ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico) sobre las células hospedantes. Los rotavirus de algunos animales necesitan residuos siálicos en la superficie de las células para unirse mientras que muchos otros, incluyendo las cepas de rotavirus humanos no los necesitan. Estos se describen como cepas sensibles a la neuraminidasa (o dependientes del ácido siálico) y resistentes a la neuraminidasa (o independientes del ácido siálico) respectivamente (Isa *et al*, 2006). Se ha publicado que los derivados del ácido siálico inhiben la unión viral de las células sensibles a los rotavirus de animales, pero no a los rotavirus humanos (Guo *et al*, 1999). Se ha publicado que el gangliósido GM1a sobre la superficie de la célula hospedante desempeña un papel como receptor en la infección por rotavirus humano (Guo *et al*, 1999). Se ha publicado que las cepas resistentes a la neuraminidasa reconocen los gangliósidos con ácidos siálicos internos, que son resistentes al tratamiento con neuraminidasa (Delorme *et al*, 2001), en contraste con los virus sensibles a la neuraminidasa que se unen a los residuos externos en los gangliósidos (Isa *et al*, 2006).

Se ha publicado que una serie de compuestos (teaflavinas, inhibidores de las proteasas, inmunoglobulina de yema de huevo, lípido sintético sialil sulfatado NMSO₃, lactaderina de la leche humana, mucina MUC1 y fracción de proteína macromolecular de suero bovino (MMWP) reprimen la infección por rotavirus *in vitro* e *in vivo*, pero ninguno ha sido utilizado con éxito clínicamente (Bojsen *et al*, 2007; Peterson *et al*, 2001; Takahashi *et al*, 2002; Isa *et al*, 2006). Gran parte de este trabajo se realizó con cepas animales de rotavirus en lugar de cepas humanas, por ejemplo, mucina MUC1 y fracción de proteína macromolecular de suero bovino (Bojsen *et al* 2007). Se llevó a cabo un estudio utilizando un concentrado de proteínas de suero producido por Fonterra Cooperative Group limited que demostró una reducción en el desprendimiento rotaviral en un modelo de ratón utilizando una cepa de rotavirus de ratón EDIM (Wolber *et al*, 2005). Kvistgaard *et al*, 2004, publicaron que la lactoferrina bovina, la lactaderina bovina y la mucina MUC1 bovina no pudieron evitar la infección del rotavirus Wa humano *in vitro*.

El tratamiento normal para la diarrea por rotavirus ha sido la terapia de rehidratación, pero esta terapia trata los síntomas, no la causa de la infección. En general no se recomienda el uso de medicamentos antidiarreicos en los niños. (Yung *et al*, 2005).

El documento WO2006/041316 describe un procedimiento para producir productos lácteos que tienen niveles más bajos de lípidos neutros, y/o niveles más altos de lípidos polares, mediante extracción utilizando dióxido de carbono o éter dimetilico casi críticos.

Ochonicky K *et al* en el Journal of Dairy Science, vol. 88, no. Supl. 1, 2005, página 365, Annual Meeting of the American-Dairy-Science-Association/American-Society-of-animal-Science/Canadian; Cincinnati, HO, USA; July 24-28, 2005 ISSN: 0022-0302 se refiere a "Inhibitory activity of bovine milk fat globule membrane against sialic acid-dependent and - independent strains of rotavirus".

- 5 Por lo tanto, existe la necesidad de terapias alternativas para el tratamiento o la prevención de la infección por rotavirus.

Sumario de la invención

En un primer aspecto de la presente invención, se proporciona un agente que comprende

- 10 (a) una o más composiciones de grasa de leche bovina que comprenden de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 85 % p/p de fosfolípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, seleccionadas de
- (i) una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con fosfolípidos,
 - (ii) una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con gangliósidos,
 - 15 (iii) uno o más hidrolizados de cualquiera de uno o más de (i) a (ii), y
 - (iv) una combinación de cualquiera de dos o más de (i) a (iii);

para uso en el tratamiento o prevención de la infección por rotavirus en un sujeto, en donde el rotavirus es un rotavirus resistente a la neuraminidasa.

Las siguientes realizaciones se pueden referir a cualquiera de los aspectos anteriores.

- 20 En una realización, el rotavirus es un rotavirus humano, esto es, una cepa de rotavirus que infecta a los seres humanos. En otra realización, el rotavirus es una cepa de rotavirus no humano, tal como una cepa de rotavirus aviar (tal como una cepa de rotavirus de pollo, paloma o pavo), bovino, canino, caprino, equino, felino, leporino, murino, ovino, porcino o de simio. En una realización, el rotavirus es un rotavirus sensible a la neuraminidasa. En otra realización, el rotavirus es un rotavirus resistente a la neuraminidasa. En otra realización más, el rotavirus es un
- 25 rotavirus humano resistente a la neuraminidasa. En otra realización más, el rotavirus humano resistente a la neuraminidasa es la cepa de rotavirus humano Wa. En una realización, el sujeto es un ser humano. En una realización, el sujeto es un adulto, un niño o un lactante, o un adulto, niño o lactante inmunodeprimido. En otra realización, el sujeto es un niño, un lactante, un niño inmunodeprimido o un lactante inmunodeprimido. En otra realización, el sujeto es un adulto, un adulto mayor de 55 años, un adulto inmunodeprimido o un adulto
- 30 inmunodeprimido mayor de 55 años.

- En una realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus reduciendo la adhesión viral a las células. En otra realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus reduciendo la entrada viral en las células. En otra realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus reduciendo la replicación viral en las células. En otra realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus reduciendo el empaquetamiento viral en las
- 35 células. En otra realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus reduciendo la lisis celular viral. En una realización, el agente trata o previene la infección por rotavirus diarreogénico. En otra realización, el agente trata o previene la diarrea causada por infección por rotavirus.

En una realización, la fracción enriquecida con gangliósidos comprende GD3 o GM3 o una combinación de los mismos.

- 40 En una realización, la fracción enriquecida con fosfolípidos comprende una o más fosfatidiletanolaminas, uno o más fosfatidilinosítoles, una o más fosfatidilserinas, una o más fosfatidilcolinas, uno o más esfingolípidos (incluyendo una o más esfingomielinas, una o más dihidroesfingomielinas, una o más ceramidas, uno o más cerebrósidos, o uno o más gangliósidos, o cualquier combinación de dos o más de ellos), uno o más lisofosfolípidos (fosfolípidos con pérdida de un ácido graso), o cualquier combinación de dos o más de los mismos.
- 45 En una realización, el agente comprende uno o más glicéridos (incluyendo uno o más monoglicéridos, uno o más diglicéridos, o uno o más triglicéridos, o cualquier combinación de dos o más de los mismos), uno o más fosfolípidos (incluyendo una o más fosfatidiletanolaminas, uno o más fosfatidilinosítoles, una o más fosfatidilserinas, una o más fosfatidilcolinas, o uno o más esfingolípidos (como se han descrito anteriormente), o cualquier combinación de dos o más de los mismos), uno o más lisofosfolípidos (fosfolípidos con pérdida de un ácido graso), una o más ceramidas,
- 50 uno o más glicerofosfolípidos, uno o más cerebrósidos (incluyendo una o más glucosilceramidas o una o más lactosilceramidas, o combinaciones de las mismas), uno o más sulfátidos, o uno o más gangliósidos (incluyendo uno o más monosialogangliósidos, uno o más disialogangliósidos, o uno o más polisialogangliósidos, o combinaciones de los mismos), o cualquier combinación de dos o más de los mismos.

En una realización, el agente se administra como un componente de una composición lipídica. Las composiciones lipídicas preferidas incluyen aceites y grasas animales, vegetales y marinos y lípidos producidos por fermentación con microorganismos. Las grasas animales preferidas incluyen, pero no se limitan a las grasas lácteas, particularmente la grasa de leche bovina, incluyendo la crema.

- 5 En una realización, el agente se selecciona de crema, mantequilla, *ghee*, grasa de leche anhidra (AMF) (típicamente producida por inversión de fase de la crema o por deshidratación de la mantequilla), suero de leche, suero de mantequilla, suero beta, fracciones de grasa de leche dura procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones H, SH y SSH), fracciones de grasa de leche blanda procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones S, SS y SSS), combinaciones de fracciones de grasa de leche dura, 10 combinaciones de fracciones de grasa de leche blanda, combinaciones de fracciones de grasa de leche dura y fracciones de grasa de la leche blanda, fracciones de esfingolípidos, fracciones enriquecidas con lípidos de la membrana de los glóbulos (o "globulares") de grasa de leche (que incluyen, por ejemplo, esfingolípidos, ceramidas y cerebrósidos), fracciones de fosfolípidos y fracciones de lípidos complejos, grasa de leche enriquecida con CLA, fracciones de grasa de leche enriquecida con CLA y cualquier combinación de dos o más de ellas, e hidrolizados de 15 las mismas, y fracciones de los hidrolizados, y combinaciones de las fracciones hidrolizadas y/o no hidrolizadas. Estas fracciones se pueden obtener de la leche entera o del calostro, y de cualquier derivado de leche entera o de calostro, incluyendo la crema, la crema fermentada y la crema de suero de leche (lípidos de la leche obtenidos del suero de leche, incluyendo el suero ácido o suero de queso, preferiblemente el suero de queso). La crema fermentada es crema procedente de leche entera o de calostro que ha sido fermentada con microorganismos 20 productores de ácido, preferiblemente bacterias de ácido láctico.

- En una realización, la grasa de leche o fracción de la misma se selecciona de crema, mantequilla, *ghee*, grasa de leche anhidra (AMF) (producida típicamente por inversión de fase de la crema o por deshidratación de la mantequilla), suero de leche, suero de mantequilla, suero beta, fracciones de grasa de leche dura procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones H, SH y SSH), fracciones de grasa de leche blanda 25 procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones S, SS y SSS), combinaciones de fracciones de grasa de leche dura, combinaciones de fracciones de grasa de leche blanda, combinaciones de fracciones de grasa de leche dura y fracciones de grasa de leche blanda, y cualquier combinación de dos o más de ellas.

- En una realización, la fracción de AMF se selecciona de una o más fracciones de grasa de leche dura (tales como las fracciones H, SH y SSH), una o más fracciones de grasa de leche blanda (tales como las fracciones S, SS y SSS), combinaciones de fracciones de grasa de leche dura, combinaciones de fracciones de grasa de leche blanda, combinaciones de fracciones de grasa de leche dura y fracciones de grasa de leche blanda, y cualquier combinación de dos o más de las mismas. 30

- En una realización, la fracción enriquecida con fosfolípidos se selecciona de suero de leche, una o más fracciones de suero de leche, suero de mantequilla, una o más fracciones de suero de mantequilla, suero beta, una o más fracciones de suero beta, una o más fracciones de esfingolípidos, una o más fracciones de lípidos de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche, una o más fracciones de fosfolípidos, una o más fracciones de lípidos complejos, y cualquier combinación de dos o más de las mismas. 35

- En una realización, la fracción enriquecida con gangliósidos se selecciona de suero de leche, una o más fracciones de suero de leche, suero de mantequilla, una o más fracciones de suero de mantequilla, suero beta, una o más fracciones de suero beta, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GD3, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GM3, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GD3 y GM3, y cualquier combinación de dos o más de las mismas. 40

En algunas realizaciones, la fracción comprende

- 45 (a) de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 % p/p de lípidos, o
(b) de aproximadamente 40 a aproximadamente 100 % p/p de lípidos, o
(c) de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, o
(d) de aproximadamente 15 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos y de aproximadamente 0 a 50 aproximadamente 75 % p/p de proteínas, o
(e) de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 85 % p/p de fosfolípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, o
(f) de aproximadamente 15 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 65 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 70 % p/p de fosfolípidos y de 55 aproximadamente 0 a aproximadamente 2,5 % p/p de gangliósidos.

En algunas realizaciones, la fracción comprende al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 o 95 % p/p de fosfolípidos, y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores (por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 50 a aproximadamente 95 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 70 %, y de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 % p/p de fosfolípidos).

En algunas realizaciones, la fracción comprende al menos aproximadamente 0,1, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 % p/p de uno o más fosfolípidos seleccionados independientemente de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol, y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores (por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 2 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 3 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 4 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 3 a aproximadamente 5 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 3 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 4 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 6 a aproximadamente 10 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 2 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 3 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 4 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 20 % p/p de uno o más fosfolípidos seleccionados independientemente de fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol).

En algunas realizaciones, la fracción comprende

(a) de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de proteínas, de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 % p/p de lípidos, y de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 % p/p de fosfolípidos, o

(b) de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de proteínas, de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 % p/p de proteínas de la MFGM (membrana de los glóbulos grasos de la leche), y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9 % p/p de gangliósidos, o

(c) de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de proteínas, de aproximadamente 15 a aproximadamente 25 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 12 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 0,1 a 2 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9 % p/p de gangliósidos, o

(d) de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 % p/p de proteínas, de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, y de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, o

(e) de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 % p/p de proteínas, de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,0 % p/p de gangliósidos, o

(f) de aproximadamente 46 a aproximadamente 52 % p/p de proteínas, de aproximadamente 28 a aproximadamente 40 % p/p de lípidos, de aproximadamente 11 a aproximadamente 16 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 3 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 7 % p/p de esfingomielina, de

aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 0,5 a 2 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 0,9 % p/p de gangliósidos, o

5 (g) de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 % p/p de proteínas, de aproximadamente 12 a aproximadamente 32 % p/p de lípidos, y de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, o

10 (h) de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 % p/p de proteínas, de aproximadamente 12 a aproximadamente 32 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de esfingomielina y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,5 % p/p de gangliósidos, o

15 (i) de aproximadamente 56 a aproximadamente 65 % p/p de proteínas, de aproximadamente 18 a aproximadamente 28 % p/p de lípidos, de aproximadamente 8 a aproximadamente 20 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de esfingomielina y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,5 a 3 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,5 % p/p de gangliósidos, o

20 (j) de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 % p/p de proteínas, de aproximadamente 85 a aproximadamente 97 % p/p de lípidos, y de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de fosfolípidos, o

25 (k) de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 % p/p de proteínas, de aproximadamente 85 a aproximadamente 97 % p/p de lípidos, de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 7 a aproximadamente 13 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 9 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de gangliósidos, o

30 (l) de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 % p/p de proteínas, de aproximadamente 80 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, y de aproximadamente 60 a aproximadamente 80 % p/p de fosfolípidos, o

35 (m) de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 % p/p de proteínas, de aproximadamente 80 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 60 a aproximadamente 80 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 18 a aproximadamente 28 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 12 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de proteínas de la MFGM, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, o

40 (n) de aproximadamente 75 a aproximadamente 99 % p/p de lípidos y de aproximadamente 15 a 35 % p/p de fosfolípidos, o

45 (o) de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 10 % p/p de esfingomielina y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % p/p de fosfatidilserina, o

50 (p) de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 % p/p de lípidos, de aproximadamente 20 a 30 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1,5 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1,2 % p/p de fosfatidilinositol, o

(q) de aproximadamente 75 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos y de aproximadamente 50 a aproximadamente 90 % p/p de fosfolípidos, o

55 (r) de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de esfingomielina, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, o

- (s) de aproximadamente 75 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 50 a aproximadamente 90 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 45 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,5 a 4 % p/p de fosfatidilinositol, o
- (t) de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 % p/p de lípidos, de aproximadamente 65 a aproximadamente 75 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,5 a 3 % p/p de fosfatidilinositol, o
- (u) de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1 % p/p de gangliósido GD3, o
- (v) de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1 % p/p de gangliósidos, o
- (w) de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 12 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilinositol, y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1 % p/p de gangliósidos, o
- (x) de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 % p/p de lípidos y de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 2 % p/p de gangliósido GD3, o
- (y) de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, y de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 3,5 % p/p de gangliósidos, o
- (z) de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidilinositol, y de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 3,5 % p/p de gangliósidos.

En una realización, la fracción comprende al menos aproximadamente 70 % de lípidos totales, al menos aproximadamente 12 % de fosfatidilcolina, al menos aproximadamente 6 % de fosfatidiletanolamina, al menos aproximadamente 6 % de esfingomielina y al menos aproximadamente 1 % de fosfatidilserina. En una fracción preferida de esta realización, la fracción comprende aproximadamente 1,8 % de ácido butírico (4:0), aproximadamente 0,3 % de ácido cáprico (10:0), aproximadamente 0,5 % de ácido láurico (12:0), aproximadamente 7,4 % de ácido mirístico (14:0), aproximadamente 14,1 % de ácido miristoleico (14:1), aproximadamente 1,0 % de ácido pentadecanoico (15:0), aproximadamente 26,0 % de ácido palmítico (16:0), aproximadamente 1,7 % de ácido palmitoleico (16:1), aproximadamente 0,6 % de ácido margárico (17:0), aproximadamente 0,3 % de ácido heptadecenoico (17:1), aproximadamente 11,9 % de ácido esteárico (18:0), aproximadamente 39,0 % de ácido oleico (18:1), aproximadamente 5,0 % de ácido linoleico (18:2), aproximadamente 2,0 % de ácido linolénico (18:3), aproximadamente 0,3 % de ácido araquídico (20:0) y aproximadamente 0,8 % de colesterol. En una realización preferida, la composición de ácidos grasos de esta fracción es sustancialmente como se describe para la fracción de fosfolípidos PC500™ concentrado de fosfolípidos en los ejemplos que siguen. Alternativamente, la fracción es un hidrolizado de la fracción de esta realización.

En otra realización, la fracción comprende al menos aproximadamente 80 % de lípidos totales, al menos aproximadamente 30 % de fosfatidilcolina, al menos aproximadamente 6 % de fosfatidiletanolamina, al menos aproximadamente 15 % de esfingomielina y al menos aproximadamente 2 % de fosfatidilserina. En una fracción preferida de esta realización, la fracción comprende aproximadamente 6,6 % de ácido mirístico (14:0), aproximadamente 27,0 % de ácido palmítico (16:0), aproximadamente 1,3 % de ácido palmitoleico (16:1), aproximadamente 2,3 % de ácido margárico (17:0), aproximadamente 14 % de ácido esteárico (18:0), aproximadamente 38,0 % de ácido oleico (18:1), aproximadamente 6,5 % de ácido linoleico (18:2), aproximadamente 2,0 % de linoleico (18:3) y aproximadamente 0,1 % de colesterol. En una realización preferida, la composición de ácidos grasos de esta fracción es sustancialmente como se describe para las fracciones de fosfolípidos PC600™ o PC700™ de Concentrado de Fosfolípidos en los ejemplos que siguen. Alternativamente, la fracción es un hidrolizado de la fracción de esta realización.

En una realización, la fracción comprende al menos aproximadamente 30 % de lípidos totales, al menos aproximadamente 0,5 % de gangliósido GD3 y al menos aproximadamente 0,4 % de gangliósido GM3. En una realización preferida, la composición de ácidos grasos de esta fracción es sustancialmente como se describe para la fracción de gangliósido G500™ en los ejemplos que siguen. Alternativamente, la fracción es un hidrolizado.

- 5 En otra realización, la fracción comprende al menos aproximadamente 30 % de lípidos totales, al menos aproximadamente 1,2 % de gangliósido GD3 y al menos aproximadamente 0,2 % de gangliósido GM3. En una realización preferida, la composición de ácidos grasos de esta fracción es sustancialmente como se describe para la fracción de gangliósido G600™ en los ejemplos que siguen. Alternativamente, la fracción es un hidrolizado de la fracción de esta realización.
- 10 En una realización, una composición útil de la presente memoria comprende, consiste esencialmente en, o consiste en al menos aproximadamente 0,1, 0,2, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 99, 99,5, 99,8 o 99,9 % en peso de uno o más agentes descritos anteriormente y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 60 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 70 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 80 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 90 %, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 99 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 99 %, y de aproximadamente 45 a aproximadamente 99 %).

- 55 En una realización, una composición útil de la presente memoria comprende, consiste esencialmente en, o consiste en al menos aproximadamente 0,001, 0,01, 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 o 19 gramos de uno o más agentes descritos anteriormente y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 gramos, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 gramos, de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 19 gramos, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1 gramos, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 gramos, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 19 gramos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 gramos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 gramos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 19 gramos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 gramos, y de aproximadamente 5 a aproximadamente 19 gramos).
- 60

En una realización, una composición útil de la presente memoria comprende, consiste esencialmente en, o consiste en aproximadamente 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 97, 99 o 99,9 % en peso de leche entera fresca o un derivado de la leche y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 50 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 50 %, y de aproximadamente 45 a aproximadamente 50 %). El derivado de la leche se selecciona preferiblemente de leche desnatada recombinada, en polvo o fresca, leche en polvo entera o desnatada combinada o reconstituida, concentrado de leche desnatada, retentado de leche desnatada, leche concentrada, retentado de leche ultrafiltrada, concentrado de proteínas de leche (MPC), aislado de proteínas de leche (MPI), concentrado de proteínas de leche con reducción de calcio (MPC), leche baja en grasa, concentrado de proteínas de leche baja en grasa (MPC), caseína, caseinato, grasa de leche, crema, mantequilla, *ghee*, grasa de leche anhidra (AMF), suero de leche, suero de mantequilla, suero beta, fracciones de grasa de leche dura, fracciones de grasa de leche blanda, fracciones de esfingolípidos, fracciones de membrana globular de grasa de leche, fracciones de lípidos de la membrana globular de la grasa de leche, fracciones de fosfolípidos, fracciones de lípidos complejos, calostro, una fracción de calostro, concentrado de proteínas de calostro (CPC), suero de calostro, una fracción de inmunoglobulina del calostro, suero de leche (incluido el suero de leche dulce, el suero de ácido láctico, el suero de ácido mineral o el polvo de suero reconstituido), aislado de proteínas de suero (WPI), concentrado de proteínas de suero (WPC), una composición derivada de cualquier corriente de proceso de leche o calostro, una composición derivada del retentado o permeado obtenido por ultrafiltración o microfiltración de cualquier corriente de proceso de leche o calostro, una composición derivada de la fracción de avance o adsorbida obtenida por separación cromatográfica (incluyendo pero sin limitarse a la cromatografía de ionización y de permeación de gel) de cualquier corriente de proceso de leche o calostro, extractos de cualquiera de estos derivados de la leche, incluyendo los extractos preparados por fraccionamiento en múltiples etapas, cristalización diferencial, fraccionamiento por disolvente, fraccionamiento supercrítico, fraccionamiento casi crítico, destilación, fraccionamiento centrífugo, o fraccionamiento con un modificador (por ejemplo, jabones o emulsionantes), hidrolizados de cualquiera de estos derivados, fracciones de los hidrolizados y cualquier combinación de dos o más de estos derivados, incluyendo las combinaciones de fracciones hidrolizadas y/o no hidrolizadas. Se debe entender que la fuente de estos derivados puede ser la leche o el calostro o una combinación de ellos.

En una realización, una composición útil de la presente memoria comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra realización, la composición es o se formula como un alimento, bebida, aditivo alimentario, aditivo para bebida, suplemento dietético, producto nutricional, alimento médico, producto de alimentación enteral, producto de alimentación parenteral, sustituto de comida, cosmeceútico, nutraceutico, medicamento o producto farmacéutico. En una realización, la composición está en la forma de un comprimido, un comprimido en forma de cápsula, una píldora, una cápsula dura o blanda o una pastilla para chupar. En una realización, la composición tiene la forma de un sello, un polvo, un polvo dispensable, gránulos, una suspensión, un elixir, un líquido o cualquier otra forma que se pueda añadir a los alimentos o bebidas, incluyendo por ejemplo agua, leche o zumo de frutas. En una realización, la composición comprende además uno o más constituyentes (tales como antioxidantes) que previenen o reducen la degradación de la composición durante el almacenamiento o después de la administración. Estas composiciones pueden incluir cualquier producto de consumo comestible que sea capaz de transportar lípidos. Los ejemplos de productos de consumo comestibles adecuados incluyen productos acuosos, productos de panadería, productos de confitería incluyendo chocolate, geles, helados, productos de frutas reconstituídos, snacks, barras de alimentos, barras de muesli, pastas, salsas, aderezos, productos lácteos, incluyendo yogures y quesos, bebidas incluyendo bebidas lácteas y no lácteas, leche, leche en polvo, suplementos deportivos, incluyendo suplementos deportivos a base de lácteos y no lácteos, zumos de frutas, aditivos alimentarios tales como chispas de proteínas, productos de suplementos dietéticos incluyendo comprimidos de suplementos diarios, alimentos de destete y yogures, y fórmulas tales como fórmula de lactantes, fórmula de continuación o fórmula de crecimiento, en polvo o en forma líquida. Las composiciones nutraceuticas adecuadas útiles en la presente memoria se pueden proporcionar en formas similares.

En una realización, la composición puede comprender además o el agente puede estar en combinación con un agente antiviral tal como uno o más agentes antiviricos seleccionados de teaflavinas, inhibidores de las proteasas, inmunoglobulina de yema de huevo, lípido sintético sialil sulfatado NMSO₃, lactaderina de leche humana. (una glucoproteína de la membrana de los glóbulos grasos de la leche), mucina MUC1, fracción de proteína macromolecular de suero bovino, o combinaciones de los mismos. En una realización, una composición útil de la presente memoria incluye o se administra de forma simultánea o secuencial con componentes lácteos tales como proteínas de suero, fracciones de proteínas de suero (incluyendo fracciones de proteínas de suero ácidas o básicas o una combinación de las mismas), glucomacropéptido, lactoferrina, lactoferrina-hierro, una lactoferrina funcional o variante de lactoferrina-hierro, una función de lactoferrina o fragmento de lactoferrina-hierro, una vitamina D o calcio, o cualquier combinación de dos o más de ellos. Preferiblemente, la composición puede comprender además o el agente puede estar en combinación con lactoferrina, lactoferrina-hierro, una lactoferrina funcional o variante de lactoferrina-hierro, una función de lactoferrina o un fragmento de lactoferrina-hierro, o una combinación de cualquiera de dos o más de ellos.

Se pretende que la referencia a un intervalo de números descrito en la presente memoria (por ejemplo, 1 a 10) incorpore también la referencia a todos los números racionales dentro de ese intervalo (por ejemplo, 1, 1,1, 2, 3, 3,9, 4, 5, 6, 6,5, 7, 8, 9 y 10) y también cualquier intervalo de números racionales dentro de ese intervalo (por ejemplo, 2 a 8, 1,5 a 5,5 y 3,1 a 4,7) y, por lo tanto, todos los sub-intervalos de todos los intervalos expresamente descritos en la presente memoria están por lo tanto descritos expresamente. Estos son solo ejemplos de lo que se pretende específicamente y todas las combinaciones posibles de valores numéricos entre el valor más bajo y el valor más alto enumerado se deben considerar expresamente establecidas en esta solicitud de una manera similar.

En esta memoria descriptiva cuando se ha hecho referencia a especificaciones de patentes, a otros documentos externos o a otras fuentes de información, esto generalmente tiene el propósito de proporcionar un contexto para exponer las características de la invención. A menos que se indique específicamente otra cosa, la referencia a dichos documentos externos no se debe interpretar como una admisión de que dichos documentos, o dichas fuentes de información, en cualquier jurisdicción, son técnicas anteriores, o forman parte del conocimiento general común en la técnica.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1, dos gráficos que muestran el porcentaje de células no infectadas en animales tratados según el Ejemplo 2 con (A) grasa de leche con alto contenido de CLA o (B) una fracción de gangliósido G600™ de grasa de leche de Fonterra Co-operative Group Limited.

Descripción detallada de la invención

Los siguientes ejemplos demuestran la prevención de la adhesión celular del rotavirus *in vitro* mediante diferentes fracciones de grasa de leche y la capacidad de las fracciones de grasa de leche para el tratamiento o prevención de la diarrea en un modelo animal infectado con la cepa de rotavirus humano Wa.

1. Definiciones

Los términos "grasa de leche anhidra" y "AMF" se usan indistintamente en la presente memoria y se refieren a la fracción de grasa de leche producida por la eliminación casi completa de agua y material no graso por inversión de fase de la crema o deshidratación de la mantequilla. La AMF (también conocido como "aceite de mantequilla anhidro" si hay aditivos presentes) se prepara típicamente a partir de crema o mantequilla de leche entera, pero también se puede preparar a partir de calostro. Los métodos comúnmente utilizados para la preparación de AMF se describen en Bylund (Ed., 1995), incorporado aquí en su totalidad. La AMF preferida tiene típicamente aproximadamente 60 %, aproximadamente 70 %, aproximadamente 80 %, aproximadamente 90 %, aproximadamente 95 %, más de aproximadamente 95 %, aproximadamente 96 %, aproximadamente 97 %, aproximadamente 98 %, aproximadamente 99 %, aproximadamente 99,5 %, o 100 % de lípidos, siendo más preferida la AMF de aproximadamente 98 % a aproximadamente 100 %, en particular de aproximadamente 99 % de lípidos, 99,5 % de lípidos o más. Las regulaciones alimentarias comúnmente requieren <0,2 % de humedad para AMF o aceite de mantequilla anhidro y <0,7 % de humedad para aceite de mantequilla. Con frecuencia, la AMF se fracciona aún más en fracciones "duras" (H) y "blandas" (S), estas últimas se pueden fraccionar aún más en fracciones "duras blandas" (SH) y "blandas blandas" (SS); y las últimas se pueden fraccionar aún más en fracciones "duras blandas blandas" (SSH) y "blandas blandas blandas" (SSS). Como se podrá apreciar, cada fracción difiere en la composición de ácidos grasos. Ejemplos no limitantes de composiciones de ácidos grasos para AMF y fracciones derivadas se muestran en las tablas 1 a 5 a continuación.

Tabla 1: Ejemplo de composición de AMF

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c4:0 (ácido butírico)	3,6	3,3	4,1
c6:0 (ácido caproico)	2,2	1,9	2,4
c8:0 (ácido caprílico)	1,2	1,1	1,4
c10:0 (ácido cáprico)	2,6	2,2	2,8
c10:1 (2-decenoato)	0,3	0,3	0,3
c12:0 (ácido láurico)	2,9	2,5	3,2
c12:1 (ácido 11-dodecenoico)	0,1	0,1	0,1
c13:0 br (ácido tridecanoico br)	0,1	0,1	0,1
c13:0 (ácido tridecanoico)	0,1	0,1	0,1

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c14:0 br (ácido mirístico br)	0,2	0,1	0,2
c14:0 (ácido mirístico)	10,4	9,5	10,8
c14:1 (ácido miristoleico)	0,9	0,6	1,0
c15:0 iso br	0,4	0,3	0,5
c15:0 ante-iso br	0,6	0,5	0,7
c15:0 (ácido pentadecanoico)	1,4	1,1	1,5
c16:0 br	0,3	0,2	0,3
c16:0 (ácido palmítico)	28,7	25,4	30,4
c16:1 (ácido palmitoleico)	1,9	1,6	2,0
c17:0 iso br	0,7	0,6	0,7
c17:0 ante-iso br	0,5	0,5	0,5
c17:0 (ácido margárico)	0,7	0,6	0,8
c17:1	0,3	0,3	0,4
c18:0 (ácido esteárico)	11,5	10,8	13,6
c18:1 (ácido oleico)	23,4	21,8	26,4
c18:2 (ácido linoleico)	1,4	1,3	1,7
c18:2 conj	1,3	1,0	1,8
c18:3	0,8	0,7	0,9
c20:0 (ácido araquídico)	0,2	0,1	0,2
c20:1	0,3	0,2	0,3

Tabla 2: Ejemplo de composición de fracción dura (fracción H)

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c4:0 (ácido butírico)	2,0	1,8	2,1
c6:0 (ácido caproico)	1,3	1,2	1,4
c8:0 (ácido caprílico)	0,8	0,8	0,9
c10:0 (ácido cáprico)	2,2	1,9	2,4
c10:1 (2-decenoato)	0,2	0,1	0,2
c12:0 (ácido láurico)	3,0	2,6	3,4
c12:1 (ácido 11-dodecenoico)	0,0	0,0	0,1
c13:0 br (ácido tridecanoico br)	0,1	0,1	0,1
c13:0 (ácido tridecanoico)	0,1	0,1	0,1
c14:0 br (ácido mirístico br)	0,1	0,1	0,2
c14:0 (ácido mirístico)	11,8	10,7	12,6

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c14:1 (ácido miristoleico)	0,6	0,3	0,7
c15:0 iso br	0,4	0,3	0,5
c15:0 ante-iso br	0,5	0,4	0,6
c15:0 (ácido pentadecanoico)	1,6	1,2	1,7
c16:0 br	0,3	0,3	0,3
c16:0 (ácido palmítico)	34,8	31,5	36,6
c16:1 (ácido palmitoleico)	1,3	1,1	1,6
c17:0 iso br	0,8	0,7	0,8
c17:0 ante-iso br	0,5	0,5	0,6
c17:0 (ácido margárico)	0,9	0,8	0,9
c17:1	0,2	0,2	0,3
c18:0 (ácido esteárico)	15,2	13,9	19,7
c18:1 (ácido oleico)	17,0	15,5	19,8
c18:2 (ácido linoleico)	1,3	1,1	1,5
c18:2 conj	0,8	0,6	1,1
c18:3	0,5	0,4	0,6
c20:0 (ácido araquídico)	0,2	0,2	0,3
c20:1	0,2	0,1	0,2

Tabla 3: Ejemplo de composición de fracción dura blanda (fracción SH)

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c4:0 (ácido butírico)	4,0	3,7	4,3
c6:0 (ácido caproico)	2,4	2,1	2,6
c8:0 (ácido caprílico)	1,2	1,1	1,4
c10:0 (ácido cáprico)	2,4	2,2	2,7
c10:1 (2-decenoato)	0,3	0,2	0,3
c12:0 (ácido láurico)	2,5	2,3	2,7
c12:1 (ácido 11-dodecenoico)	0,1	0,0	0,1
c13:0 br (ácido tridecanoico br)	0,1	0,1	0,1
c13:0 (ácido tridecanoico)	0,1	0,1	0,1
c14:0 br (ácido mirístico br)	0,1	0,1	0,2
c14:0 (ácido mirístico)	9,8	9,0	10,3
c14:1 (ácido miristoleico)	0,8	0,5	0,9
c15:0 iso br	0,4	0,3	0,4

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c15:0 ante-iso br	0,5	0,4	0,6
c15:0 (ácido pentadecanoico)	1,4	1,1	1,5
c16:0 br	0,2	0,2	0,3
c16:0 (ácido palmítico)	32,8	29,8	34,0
c16:1 (ácido palmitoleico)	1,5	1,3	1,8
c17:0 iso br	0,6	0,6	0,7
c17:0 ante-iso br	0,4	0,4	0,5
c17:0 (ácido margárico)	0,8	0,8	0,9
c17:1	0,3	0,2	0,3
c18:0 (ácido esteárico)	13,2	12,5	16,1
c18:1 (ácido oleico)	19,5	17,4	22,2
c18:2 (ácido linoleico)	1,3	1,2	1,5
c18:2 conj	1,2	1,0	1,6
c18:3	0,7	0,6	0,7
c20:0 (ácido araquídico)	0,2	0,2	0,3
c20:1	0,2	0,2	0,3

Tabla 4: Ejemplo de composición de fracción dura blanda blanda (fracción SSH)

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c4:0 (ácido butírico)	4,0	3,9	4,3
c6:0 (ácido caproico)	2,4	2,2	2,6
c8:0 (ácido caprílico)	1,4	1,2	1,6
c10:0 (ácido cáprico)	2,8	2,4	3,4
c10:1 (2-decenoato)	0,3	0,3	0,3
c12:0 (ácido láurico)	3,2	2,7	3,8
c12:1 (ácido 11-dodecenoico)	0,1	0,1	0,1
c13:0 br (ácido tridecanoico br)	0,1	0,1	0,1
c13:0 (ácido tridecanoico)	0,1	0,1	0,1
c14:0 br (ácido mirístico br)	0,2	0,1	0,2
c14:0 (ácido mirístico)	11,5	10,6	12,2
c14:1 (ácido miristoleico)	0,9	0,7	1,0
c15:0 iso br	0,4	0,4	0,5
c15:0 ante-iso br	0,6	0,6	0,7
c15:0 (ácido pentadecanoico)	1,4	1,2	1,5

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c16:0 br	0,3	0,2	0,3
c16:0 (ácido palmítico)	28,6	25,7	30,0
c16:1 (ácido palmitoleico)	1,8	1,6	2,0
c17:0 iso br	0,7	0,6	0,7
c17:0 ante-iso br	0,5	0,5	0,5
c17:0 (ácido margárico)	0,7	0,6	0,8
c17:1	0,3	0,3	0,4
c18:0 (ácido esteárico)	10,6	10,2	11,3
c18:1 (ácido oleico)	22,2	20,3	24,8
c18:2 (ácido linoleico)	1,4	1,3	1,5
c18:2 conj	1,3	1,1	1,7
c18:3	0,8	0,8	1,0
c20:0 (ácido araquídico)	0,2	0,1	0,2
c20:1	0,2	0,0	0,3

Tabla 5: Ejemplo de composición de fracción blanda blanda blanda (fracción SSS)

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c4:0 (ácido butírico)	4,4	4,0	4,7
c6:0 (ácido caproico)	2,7	2,4	2,8
c8:0 (ácido caprílico)	1,6	1,4	1,8
c10:0 (ácido cáprico)	3,4	2,8	3,7
c10:1 (2-decenoato)	0,4	0,3	0,4
c12:0 (ácido láurico)	3,7	3,2	4,1
c12:1 (ácido 11-dodecenoico)	0,1	0,1	0,1
c13:0 br (ácido tridecanoico br)	0,2	0,1	0,2
c13:0 (ácido tridecanoico)	0,1	0,1	0,1
c14:0 br (ácido mirístico br)	0,2	0,2	0,2
c14:0 (ácido mirístico)	10,2	9,5	11,0
c14:1 (ácido miristoleico)	1,2	0,8	1,3
c15:0 iso br	0,5	0,4	0,5
c15:0 ante-iso br	0,8	0,7	0,9
c15:0 (ácido pentadecanoico)	1,1	0,9	1,2
c16:0 br	0,3	0,2	0,3
c16:0 (ácido palmítico)	20,0	18,4	21,1

Componente de ácido graso	Media (% p/p)	Mínimo (% p/p)	Máximo (% p/p)
c16:1 (ácido palmitoleico)	2,6	2,2	3,0
c17:0 iso br	0,6	0,5	0,6
c17:0 ante-iso br	0,5	0,5	0,5
c17:0 (ácido margárico)	0,4	0,4	0,5
c17:1	0,5	0,5	0,6
c18:0 (ácido esteárico)	6,7	5,8	7,8
c18:1 (ácido oleico)	30,8	28,2	33,4
c18:2 (ácido linoleico)	1,9	1,7	2,1
c18:2 conj	1,7	1,3	2,3
c18:3	1,3	1,1	1,4
c20:0 (ácido araquídico)	0,1	0,1	0,1
c20:1	0,3	0,1	0,4

El término "suero beta" significa un ingrediente lácteo acuoso separado de la corriente láctea que contiene más del 60 % de grasa que ha sufrido una inversión de fase pasando de una emulsión de aceite en agua a una de agua en aceite, como se describe a continuación. La crema es el material de partida preferido para la producción de beta-suero. Por ejemplo, el beta-suero se produce durante la producción de aceite de mantequilla (conocido también como grasa de leche anhidra o AMF) a partir de la crema, como se muestra en la Figura 2 del documento WO 2006/041316. Preferiblemente, el suero beta es desecado; preferiblemente, el beta-suero desecado es un polvo.

La expresión "grasa de leche con alto contenido de CLA" se usa de manera intercambiable con la expresión "grasa de leche enriquecida con CLA" y significa grasa de leche que comprende un nivel más alto de CLA c-9, t-11 o una sal, éster o precursor del mismo que la grasa de leche normal, y, opcionalmente, un nivel más alto de uno o más de otros isómeros de CLA. La grasa de leche enriquecida con CLA se puede preparar por técnicas conocidas que incluyen, pero no se limitan a la alimentación suplementaria con ácidos grasos libres de las vacas alimentadas con pasto, por ejemplo, alimentando las vacas con aceite de pescado y aceite de girasol según métodos conocidos. La grasa de leche enriquecida con CLA se prepara típicamente a partir de leche entera, pero también se puede preparar a partir de calostro. Una composición típica de grasa de leche enriquecida con CLA está descrita en la solicitud PCT internacional publicada WO 2005/107736 que se incorpora aquí como referencia. La grasa de leche enriquecida con CLA se puede preparar también complementando la grasa de leche con CLA, como se describe a continuación. En una realización, la grasa de leche enriquecida con CLA comprende al menos aproximadamente 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 o 50 % en peso de CLA, preferiblemente CLA c-9, t-11 o una sal, éster o precursor del mismo y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 4 % a aproximadamente 7 %). Preferiblemente, la grasa de leche enriquecida con CLA comprende al menos aproximadamente 2 % de CLA c-9, t-11 en peso, preferiblemente de aproximadamente 2 a 10 % de CLA c-9, t-11 en peso, más preferiblemente de aproximadamente 4 a 7 % de CLA c-9, t-11 en peso y lo más preferiblemente aproximadamente 5 % de CLA c-9, t-11 en peso. En una realización, la grasa de leche enriquecida con CLA comprende isómeros de CLA que comprenden al menos aproximadamente 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 99 % en peso de CLA, preferiblemente CLA c-9, t-11 o una sal, éster o precursor del mismo y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 80 % a aproximadamente 95 %). Preferiblemente, la grasa de leche enriquecida con CLA incluye isómeros de CLA que comprenden al menos aproximadamente 50 % de CLA c-9, t-11 en peso, preferiblemente de aproximadamente 70 a 80 % de CLA c-9, t-11 en peso.

El término "que comprende" tal como se usa en esta memoria descriptiva significa "que consiste al menos en parte de". Cuando se interpretan afirmaciones en esta memoria descriptiva que incluyen ese término, las características, precedidas por ese término en cada afirmación o reivindicación, necesitan estar todas presentes, pero también pueden estar presentes otras características. Los términos relacionados tales como "comprender" y "comprendido" se deben interpretar de la misma manera.

El término "ácido linoleico conjugado" (CLA) significa uno o más isómeros de CLA seleccionados de los isómeros del ácido 9,11-octadecadienoico y ácido 10,12-octadecadienoico, en forma libre o esterificada, o sus sales, o mezclas de los mismos, incluyendo los isómeros cis-9,cis-11, cis-9,trans-11, trans-9,cis-11, trans-9,trans-11, cis-10,cis-12,

cis-10,t12, trans-10,cis-12 y trans-10,t12, preferiblemente los isómeros cis-9,cis-11, cis-9,trans-11, trans-10,cis-12 y cis-10,cis-12, como se describen en la patente de Estados Unidos publicada US 5.585.400, incorporada aquí como referencia. Las fuentes naturales de CLA tales como cis-9, trans-11 CLA están descritas por Chin *et al* (1992) e incluyen fuentes animales, bacterianas y vegetales. El ácido linoleico se puede convertir en CLA por fermentación bacteriana con *Clostridium sporogenes*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium sordellii* y *Bacteroides sp*, por ejemplo (Verhulst, *et al.*, 1985). Otros organismos útiles para la fermentación bacteriana incluyen *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Eubacterium lentum*, *Propionibacterium freudenreichi*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus reuteri*, *Megasphaera elsdenii* y *Bifidobacterium breve*. Los aceites de girasol y de cártamo, que contienen aproximadamente 65 % y 76 % de ácido linoleico respectivamente, se pueden usar para la producción de CLA.

Una "cantidad eficaz" es la cantidad necesaria para conferir un efecto terapéutico. La interrelación de las dosis para animales y humanos (basada en miligramos por metro cuadrado de superficie corporal) está descrita por Freireich, *et al.* (1966). El área superficial del cuerpo se puede determinar aproximadamente a partir de la altura y el peso del sujeto. Véase, por ejemplo, Scientific Tables, Geigy Pharmaceuticals, Ardley, New York, 1970, 537. Las dosis eficaces varían también, como reconocen los expertos en la técnica, dependiendo de la vía de administración, el uso de vehículo y similares.

Los términos "enriquecer" y "enriquecido" significan que la fracción o composición tiene una concentración más alta del componente nombrado que la que está presente en la leche entera, crema, mantequilla, grasa de leche anhidra, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta, o en la fracción original a partir de la cual se deriva la fracción o composición. Por ejemplo, una fracción enriquecida con gangliósidos es una fracción que tiene una concentración más alta de gangliósidos que la leche entera, crema, mantequilla, grasa de leche anhidra, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta. Igualmente, una fracción enriquecida con fosfolípidos es una fracción que tiene una concentración más alta de fosfolípidos que la leche entera, crema, mantequilla, grasa de leche anhidra, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta.

El término "fracción" significa una composición que se ha aislado de un material de origen y que tiene diferente composición que el material de origen del que se aisló la fracción. Por ejemplo, una fracción de grasa de leche de mamífero no humano, tal como una fracción de grasa de leche de oveja, cabra, cerdo, ratón, búfalo de agua, camello, yak, caballo, burro, llama o bovino, preferiblemente una fracción de grasa de leche bovina, difiere en su composición de la grasa de leche natural en la leche entera. En realizaciones alternativas, la concentración en la fracción es más alta que la concentración en la leche entera, o en el calostro entero, o en la crema de leche, o en la crema de calostro, o en la AMF de leche, o en la AMF de calostro. El material de origen preferido útil de la presente memoria incluye leche entera, crema, grasa de leche anhidra, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta, o crema de suero de leche bovina. Las fracciones preferidas son fracciones de lípidos, como se describe en la presente memoria.

Por consiguiente, la expresión "fracción de grasa de leche enriquecida con fosfolípidos" significa una fracción aislada de grasa de leche de mamífero no humano donde la concentración de fosfolípidos de la fracción es más alta que la concentración de fosfolípidos de la grasa de leche de mamíferos no humanos que se produce naturalmente. Preferiblemente, la concentración de al menos un fosfolípido o al menos un gangliósido y al menos un gangliósido en una fracción útil de la presente memoria es al menos aproximadamente 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 % más alta que la concentración en la grasa de la leche de mamíferos no humanos que se produce naturalmente, y se pueden seleccionar intervalos útiles entre estos valores. En realizaciones alternativas, la concentración en la fracción es más alta que la concentración en la leche entera, o en el calostro entero, o en la crema de leche, o en la crema de calostro, o en la AMF de leche, o en la AMF de calostro.

Igualmente, la expresión "fracción de grasa de leche enriquecida con gangliósidos" significa una fracción aislada de grasa de leche de mamíferos no humanos donde la concentración de gangliósidos de la fracción es más alta que la concentración de fosfolípidos de la grasa de leche de mamíferos no humanos que se produce naturalmente. Preferiblemente, la concentración de al menos un gangliósido o al menos un gangliósido y al menos un fosfolípido en una fracción útil de la presente memoria es al menos aproximadamente 0,5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 % más alta que la concentración en la grasa de leche de mamíferos no humanos que se produce naturalmente, y se pueden seleccionar intervalos útiles entre estos valores. En realizaciones alternativas, la concentración en la fracción es más alta que la concentración en la leche entera, o en el calostro entero, o en la crema de leche, o en la crema de calostro, o en la AMF de leche, o en la AMF de calostro.

La expresión "fragmento de lactoferrina funcional" significa una porción natural o no natural de un polipéptido de lactoferrina que tiene actividad cuando se analiza según los ejemplos que siguen, e incluye fragmentos funcionales de iones metálicos. Los fragmentos de lactoferrina útiles incluyen polipéptidos de lactoferrina truncados, hidrolizados de lactoferrina de unión a iones metálicos, fragmentos que comprenden el receptáculo de unión (binding pocket) de iones metálicos al lóbulo N, fragmentos que comprenden el receptáculo de unión de iones metálicos al lóbulo C y fragmentos de unión a iones metálicos generados (por procedimientos naturales o artificiales) e identificados por técnicas conocidas como se expone más adelante. Las solicitudes de patente internacional publicadas WO 2006/054908 y WO 2007/043900 informan sobre la preparación y el uso de fragmentos de lactoferrina y se incorpora cada una a la presente memoria como referencia.

La expresión "variante de lactoferrina funcional" significa una variante de un polipéptido de lactoferrina que tiene actividad cuando se ensaya según los ejemplos que siguen, e incluye variantes funcionales de iones metálicos.

El término "polipéptido de lactoferrina" se refiere a una secuencia de aminoácidos de lactoferrina natural glucosilada o no glucosilada o una secuencia de lactoferrina homóloga de una especie tal como las que se describen a continuación. Un polipéptido de lactoferrina tiene dos receptáculos de unión a iones metálicos, por lo que se puede unir a iones metálicos en una relación estequiométrica de 2 iones metálicos por molécula de lactoferrina. Un receptáculo de unión a iones metálicos está presente en el lóbulo N-terminal (N-lóbulo) de la lactoferrina y el otro receptáculo está presente en el lóbulo C-terminal (C-lóbulo). Se pueden encontrar secuencias verificadas de lactotransferrinas (precursores de lactoferrina), lactoferrinas y péptidos bovinos y humanos en Swiss-Prot (<http://au.expasy.org/cgi-bin/sprot-search-ful>). Los polipéptidos de lactoferrina indicativos incluyen el precursor de lactotransferrina bovina número de acceso P24627, la lactoferrina bovina, el precursor de lactotransferrina humana número de acceso P02788 y la lactoferrina humana. Las solicitudes de patente internacional publicadas WO 2006/054908 y WO 2007/043900 describen la preparación (incluyendo el aislamiento de la leche) y el uso de polipéptidos, fragmentos, hidrolizados de lactoferrina y sus secuencias de aminoácidos, y cada solicitud se incorpora a la presente memoria como referencia. Los polipéptidos de lactoferrina se pueden unir a niveles "naturales" de iones metálicos, típicamente iones de hierro. Por ejemplo, la lactoferrina bovina tiene naturalmente de aproximadamente 10 % a 20 % (preferiblemente 15 %) de hierro saturado. La apo-lactoferrina y la lactoferrina de al menos 1 % de saturación de iones metálicos son útiles en la presente memoria.

Las expresiones "lactoferrina con ion metálico", "lactoferrina saturada de ion metálico", "fragmento de lactoferrina con ion metálico" y "fragmento de lactoferrina saturada de ion metálico" se refieren a una población de polipéptidos o fragmentos de lactoferrina que proporcionan una población con receptáculos de unión a iones metálicos donde al menos aproximadamente 25 % de los receptáculos de unión a iones metálicos presentes en la población tienen un ion metálico unido. Se debe entender que la población puede contener polipéptidos de diferentes especies; por ejemplo, algunas moléculas que no se unen a ningún ion y otras que se unen a uno o dos iones. En los casos en que se utilizan diferentes iones metálicos, algunas moléculas se pueden unir a un ion metálico seleccionado, por ejemplo, del grupo que comprende iones de aluminio, bismuto, cobre, cromo, cobalto, oro, hierro, manganeso, osmio, platino, rutenio, zinc, u otros iones que se coordinarán específicamente en un receptáculo de unión a iones metálicos de lactoferrina, y otros se pueden unir a un ion diferente. En algunos casos, la población puede comprender polipéptidos implicados en la unión no específica a iones, donde uno o más iones, preferiblemente iones metálicos, no están específicamente unidos, es decir, no están unidos en el receptáculo de unión de iones metálicos al polipéptido. Ejemplos no limitantes de iones que se pueden unir de manera no específica a los polipéptidos de lactoferrina son el calcio y el selenio. Se pueden lograr diversos grados de saturación y el grado de saturación se puede determinar por análisis espectrofotométrico mediante métodos conocidos - véase por ejemplo, la solicitud internacional publicada WO 2007/043900 que se incorpora a la presente memoria como referencia. En una realización, al menos aproximadamente 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 99,5, 99,9 o 100 % de los receptáculos de unión a iones metálicos presentes en la población de moléculas de lactoferrina tienen un ion metálico unido y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de los valores anteriores (por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 15 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 20 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 25 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 30 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 35 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 40 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 45 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 50 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 55 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 60 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 65 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 70 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 75 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 80 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 85 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 90 a aproximadamente 100 %, de aproximadamente 95 a aproximadamente 100 % y de aproximadamente 99 a aproximadamente 100 %).

El término "grasa de leche" incluye lípidos y fracciones de lípidos, hidrolizados de lípidos e hidrolizados de fracciones de lípidos de la leche de mamíferos. En algunas realizaciones, la grasa de leche puede ser cualquier grasa de leche de mamíferos que incluye pero no se limita a grasa de leche bovina, de oveja, de cabra, de cerdo, de ratón, de búfalo de agua, de camello, de yak, de caballo, de burro, de llama o humana, siendo la grasa de leche bovina una fuente preferida. Las grasas de leche preferidas son las grasas lácteas, en particular las grasas de leche bovina. La grasa de leche preferida tiene uno o más entre ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico o ácido mirístico como el ácido o ácidos grasos más abundantes presentes, preferiblemente los ácidos palmítico, oleico, esteárico y mirístico son los ácidos grasos presentes más abundantes. En realizaciones particularmente preferidas, la grasa de leche, tal como la crema o AMF, por ejemplo, tiene a) sustancialmente el mismo porcentaje en peso de ácido palmítico que la grasa de leche bovina normal (entre aproximadamente 23 % (p/p) y aproximadamente 32 % (p/p), típicamente aproximadamente 28 % (p/p) - véase la tabla 1.2, PF Fox and PLH McSweeney eds, *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 - Lipids*, 3rd Ed, Springer NY, NY (2006) ISBN-10:0- 387-26364-0); b) sustancialmente el mismo porcentaje en peso de ácido oleico que la grasa de leche bovina normal (entre aproximadamente 15 % (p/p) y aproximadamente 22 % (p/p), típicamente aproximadamente 17 % (p/p) - véase Fox and McSweeney *ibid*); c) sustancialmente el mismo porcentaje en peso de ácido esteárico que la grasa de leche bovina normal (entre

aproximadamente 10 % (p/p) y aproximadamente 15 % (p/p), típicamente aproximadamente 12 % (p/p) - véase Fox and McSweeney *ibid*); d) sustancialmente el mismo porcentaje en peso de ácido mirístico que la grasa de leche bovina normal (entre aproximadamente 9 % (p/p) y aproximadamente 12 % (p/p), típicamente aproximadamente 11 % (p/p) - véase Fox and McSweeney *ibid*); e) dos cualquiera de a), b), c) o d) anteriores; f) tres cualquiera de a), b), c) o d) anteriores; g) cada uno de a), b), c) y d) anteriores. Se prefiere la grasa de leche anhidra (AMF), particularmente AMF que tiene sustancialmente el mismo porcentaje en peso de composición de ácido palmítico, oleico y esteárico que la grasa de leche bovina normal, más preferiblemente sustancialmente la misma composición de ácido graso que la grasa de leche bovina normal (véase Fox and McSweeney *ibid*). Las fracciones de grasa de leche preferidas incluyen también crema, mantequilla, grasa de leche anhidra (AMF) (típicamente producidas por inversión de fase de la crema o deshidratación de la mantequilla), suero de leche, suero de mantequilla, suero beta, fracciones de grasa de leche dura procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones H, SH y SSH), fracciones de grasa de leche blanda procedentes de una o más etapas de fraccionamiento (incluyendo las fracciones S, SS y SSS), combinaciones de fracciones de grasa de leche dura, combinaciones de fracciones de grasa de leche blanda, combinaciones de fracciones de grasa de leche dura y fracciones de grasa de leche blanda, fracciones de esfingolípidos (incluyendo fracciones de esfingomielina, fracciones de ceramida, fracciones de cerebrósidos o fracciones de gangliósidos, o cualquier combinación de dos o más de las mismas), fracciones de lípidos de la membrana de los glóbulos de grasa de leche, fracciones de fosfolípidos y fracciones de lípidos complejos, o cualquier combinación de dos o más de los mismos, e hidrolizados de uno o más de los mismos, y fracciones de los hidrolizados, combinaciones de dos o más hidrolizados, y combinaciones de una o más fracciones hidrolizadas y/o una o más fracciones no hidrolizadas. Preferiblemente, la grasa de leche comprende al menos aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 99 o 100 % de lípidos, y se pueden seleccionar intervalos útiles entre cualquiera de estos valores (por ejemplo, de aproximadamente 60 a aproximadamente 100, de aproximadamente 70 a aproximadamente 100, de aproximadamente 80 a aproximadamente 100, de aproximadamente 85 a aproximadamente 100, de aproximadamente 90 a aproximadamente 100, de aproximadamente 95 a aproximadamente 100, de aproximadamente 96 a aproximadamente 100, de aproximadamente 97 a aproximadamente 100, de aproximadamente 98 a aproximadamente 100, y de aproximadamente 99 a aproximadamente 100 %, preferiblemente de aproximadamente 40 % o más a aproximadamente 100 %).

El término "administración oral" incluye administración oral, bucal, enteral e intragástrica.

El término "administración parenteral" incluye, pero no se limita a administración tópica (incluyendo la administración a cualquier superficie dérmica, epidérmica o mucosal), subcutánea, intravenosa, intraperitoneal e intramuscular.

El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo que incluye pero no se limita a un excipiente, diluyente o auxiliar, o combinación de los mismos, que se puede administrar a un sujeto como un componente de una composición descrita en la presente memoria que no reduce la actividad de la composición y no es tóxico cuando se administra en dosis suficientes para liberar una cantidad eficaz de un compuesto o composición útil de la presente memoria. Las formulaciones se pueden administrar por vía oral, nasal o parenteral (incluyendo tópicamente, intramuscularmente, intraperitonealmente, subcutáneamente e intravenosamente).

Un "sujeto" es un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente, un animal de compañía mamífero o un ser humano. Los animales de compañía preferidos incluyen gatos, perros y caballos. En una realización, el ser humano es un adulto, un niño o un lactante, o un adulto, niño o lactante inmunodeprimido.

El término "tratar" y sus derivados se deben interpretar en su contexto más amplio posible. No se debe tomar el término para implicar que un sujeto es tratado hasta la recuperación total. Por consiguiente, "tratar" incluye ampliamente la mejoría y/o la prevención de la aparición de los síntomas o la gravedad de una afección particular.

2. Grasa de leche y fraccionamiento de grasa de leche.

La grasa de leche es analizada exhaustivamente por Fox and McSweeney (2006), incorporado a esta memoria como referencia. Además de los lípidos, la grasa de leche incluye vitaminas, esteroides y componentes menores. Véase Chapter 1, Composition and Structure of Bovine Milk Lipids, Fox and McSweeney, para una descripción de la grasa de leche bovina natural. El fraccionamiento de la grasa de leche es analizado en el Dairy Processing Handbook, 1995, y por Illingworth, 2002, y por Rombaut *et al*, 2006(b), todos incorporados a esta memoria como referencia. La variación estacional de la grasa de leche es analizada por Fox and McSweeney (2006).

Los ejemplos de fracciones de grasa de leche útiles según la invención incluyen crema (típicamente de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 % de grasa en peso, preferiblemente de aproximadamente 40 % de grasa en peso), mantequilla, *ghee*, grasa de leche anhidra (AMF) (típicamente producida por inversión de fase de crema o deshidratación de la mantequilla), suero de leche, suero de mantequilla, suero beta, fracciones de grasa de leche dura, fracciones de grasa de leche blanda, fracciones de esfingolípidos, fracciones de membrana globular de grasa de leche, fracciones de lípidos de membrana globular de grasa de leche, fracciones de fosfolípidos y fracciones de lípidos complejos (lípidos que producen 3 o más tipos de productos de hidrólisis por molécula), y combinaciones de los mismos, e hidrolizados de los mismos.

El suero de leche, el suero de mantequilla y el suero beta son analizados por Bylund, 1995, Rombaut *et al*, 2005, Rombaut *et al*, 2006 (a), Rombaut *et al*, 2006 (b), y la solicitud internacional publicada WO 2006/041316, por ejemplo, incorporados todos a la presente memoria como referencia. El suero de leche es un término usado para describir la fase líquida acuosa obtenida de la producción de mantequilla tradicional utilizando un procedimiento de fabricación de mantequilla que puede ser un procedimiento en lotes (batido) o un procedimiento continuo (Fritz). Suero de leche es también un término usado para describir el subproducto acuoso producido por la etapa de concentración de la crema del método tradicional de producción de AMF a partir de la crema. Este método tradicional incluye la concentración y después la inversión de fase de la crema para producir un aceite que se concentra y se pule después para producir AMF. Finalmente, suero de leche también es un término usado para describir una combinación de los subproductos secundarios de suero desnatado y beta de un procedimiento de dos sueros para la producción de AMF - véase, por ejemplo, Bylund (Ed., 1995) y la solicitud internacional publicada WO 2006/041316 (véase la Figura 2) que describen este procedimiento en detalle. En ese procedimiento de dos sueros, el subproducto de la etapa de concentración de la crema se separa después para producir suero desnatado secundario y el subproducto de la etapa de concentración de aceite se separa adicionalmente para producir el suero beta. En los dos primeros casos, el suero de leche se produce antes de que haya tenido lugar ninguna inversión de fase. En el tercer caso, el suero de leche es una combinación de suero desnatado secundario producido antes de la inversión de fase y el suero beta producido después de la inversión de fase. La concentración y el pulido en estos procesos se alcanza típicamente por centrifugación. La inversión de fase se logra típicamente por homogeneización. Se debe entender que la fuente de estas fracciones de lípidos lácteos puede ser la leche o el calostro o una combinación de los mismos.

Los materiales de partida útiles para el fraccionamiento incluyen crema, AMF, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta, procedentes de leche o de calostro o una combinación de los mismos.

El fraccionamiento en múltiples etapas de la grasa de leche se puede realizar por cristalización diferencial. Las fracciones de grasa de leche se calientan a una temperatura establecida y las fracciones cristalizadas o sólidas ("estearina" - fracción dura) y líquidas ("oleína" - fracción blanda) se separan. El fraccionamiento en varias etapas se refiere al re-fraccionamiento en una etapa posterior de un producto de una etapa previa de fraccionamiento. Las fracciones blandas sucesivas se pueden producir por fraccionamiento de las fracciones blandas originales en sub-fracciones blandas y duras.

Otros métodos de fraccionamiento incluyen inversión de fase, interesterificación, glicerolisis, fraccionamiento con disolvente (tal como con etanol, agua o acetona, utilizados solos o secuencialmente), fraccionamiento supercrítico (véase Astaire, *et al*, 2003, por ejemplo), fraccionamiento casi crítico (véase el documento WO 2004/066744, por ejemplo), destilación, fraccionamiento centrífugo, cristalización en suspensión, cristalización en seco, fraccionamiento con un modificador (por ejemplo, jabones o emulsionantes), ultrafiltración, microfiltración y cualquier procedimiento de fraccionamiento de lípidos conocido en la técnica, y combinaciones de estos métodos, todos conocidos en la técnica.

En una realización, el método de fraccionamiento se selecciona del fraccionamiento con disolvente de la crema, AMF, suero de leche, suero de mantequilla o suero beta, utilizando etanol, agua o acetona, solos o secuencialmente.

Los lípidos presentes en las composiciones de la invención pueden estar total o parcialmente modificados, ya sea de forma natural, químicamente, enzimáticamente o por cualquier otro método conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, glucosilado, sialilado, esterificado, fosforilado o hidrolizado. Los hidrolizados de lípidos se pueden preparar usando técnicas conocidas, que incluyen pero no se limitan a hidrólisis ácida, hidrólisis básica, hidrólisis enzimática utilizando una lipasa, por ejemplo, como se describe en Fox and McSweeney ((2006), Chapter 15 por HC Deeth and CH Fitz-Gerald), y fermentación microbiana. Un método de hidrólisis básica incluye añadir KOH al 1 % (en etanol) y calentar durante 10 minutos. El material hidrolizado se puede neutralizar con ácido acético o ácido clorhídrico.

El material de la membrana de los glóbulos de grasa de leche se puede aislar según el método de acidificación de Kanno & Dong-Hyun, 1990, y se puede fraccionar además en fracciones de lípidos y proteínas mediante la adición de metanol, como está descrito por Kanno *et al*, 1975. Se puede aislar una fracción de fosfolípidos por extracción de la mezcla lipídica con acetona según el procedimiento de Purthi *et al*, 1970. El residuo lipídico se puede enriquecer aún más en los lípidos de la membrana de los glóbulos de grasa de leche mediante la extracción selectiva de lípidos no polares con pentano.

Los métodos de fraccionamiento útiles para producir fracciones de grasa de leche útiles en la presente memoria se describen también en las solicitudes de patente internacional publicadas WO 2006/041316, WO 2007/123424 y WO 2007/123425, que se incorporan aquí como referencia en su totalidad.

Las fracciones de grasa de leche particularmente preferidas útiles en la presente memoria incluyen las descritas en los ejemplos que siguen y las resumidas en las siguientes tablas. Estas fracciones pueden ser emulsiones o fracciones secas, y pueden ser polvos, opcionalmente con componentes que incluyen adyuvantes de flujo tales como lactosa añadida para mejorar la fluidez.

Tabla 6 - Fracciones de grasa de leche.

	Fracción					
	1	2	3	4	5	6
Componente (% p/p)	H	SH	SSH	S	SS	SSS
Proteína	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Grasa (lípidio neutro)	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9	99,9
Fosfolípido	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Lactosa	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Cenizas	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Humedad	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
<0,01 = cantidades traza						

Tabla 7 - Fracciones de fosfolípidos y gangliósidos

	Fracción										
	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Componente (%p/p)	Suero beta						PC500™	PC700™		G500™	G600™
Proteína	30,2	49,7	60,2	<0,01	<0,01	12,4	0,0	0,0	ND	<2 %	10,2
MFGM	7,5	11,9	14,4	0,2	ND	ND	0,0	0,0	ND	ND	ND
Grasa	20,6	35,6	23,1	94,2	86,8	90,2	87,0	84,4	84,6	35,5	27,9
Fosfolípido	9,7	14,9	16,0	31,0	65,7	66,8	24,7	60,2	27,6	17,6	15,1
PC	2,5	3,8	4,9	8,1	16,8	15,0	8,0	19,2	3,2	3,1	2,0
PI	0,8	1,1	1,5	2,8	5,8	6,0	0,7	2,0	6,0	2,8	2,9
PS	1,1	1,6	2,1	4,3	8,7	7,6	1,0	2,4	7,3	3,5	4,0
PE	2,8	4,3	5,4	11,3	23,6	21,8	7,7	17,0	6,4	4,9	4,4
SM	2,4	3,6	4,5	7,5	16,5	13,6	6,9	16,7	3,5	2,8	1,6
Gangliósidos	0,4	0,7	1,0	1,2	2,0	2,0	0,0	0,0	4,5	1,3	2,0
GD3	0,4	0,6	0,9	1,1	1,8	1,8	0,0	0,0	4,0	0,6	1,8
Lactosa	ND	7,8	11,7	2,6	6,4	4,0	4,1	6,2	8,3	54,9	58,0
Cenizas	ND	5,2	5,9	3,1	12,1	9,1	13,3	7,4	7,0	5,0	8,3
Humedad	1,9	2,7	2,9	2,6	4,6	2,3	2,2	2,0	3,7	3,2	2,8
ND = no determinado; <0,01 = cantidades traza											

5 3. Composiciones útiles según la invención.

Una composición útil de la presente memoria se puede formular como un alimento, bebida, aditivo alimentario, aditivo para bebida, suplemento dietético, producto nutricional, alimento médico, producto de alimentación enteral o parenteral, sustituto de comida, cosmeceútico o producto farmacéutico. Las formulaciones apropiadas pueden ser preparadas por un experto en la técnica con respecto a la técnica y la enseñanza de esta memoria descriptiva.

En una realización, las composiciones útiles en la presente memoria incluyen cualquier producto de consumo comestible que sea capaz de transportar lípidos. Los ejemplos de productos de consumo comestibles adecuados incluyen polvos, líquidos, productos de confitería incluyendo chocolate, geles, helados, productos de fruta reconstituidos, barras de snack, barras de alimentos, barras de muesli, pastas, salsas, aderezos, productos lácteos que incluyen yogures y quesos, bebidas que incluyen bebidas a base de lácteos y de no lácteos (tales como bebidas lácteas y bebidas de yogur), leche en polvo, suplementos deportivos incluyendo suplementos deportivos a base de lácteos y de no lácteos, aditivos alimentarios tales como chispas de proteínas, productos de suplementos dietéticos que incluyen comprimidos de suplementos diarios, alimentos de destete y yogures y fórmulas tales como fórmula para lactantes, fórmula de continuación o fórmula de crecimiento en polvo o líquido. Dentro de esta realización, una composición preferida útil de la presente memoria puede ser una fórmula de lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento, en forma de polvo o líquido. Las composiciones nutracéuticas adecuadas útiles en la presente memoria se pueden proporcionar en formas similares.

Los ejemplos de fórmulas tales como fórmula de lactantes, fórmula de continuación o fórmula de crecimiento, en forma líquida o en polvo, incluyen los siguientes. Un ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

- (a) 30 - 60 % de lactosa
- (b) 15 - 35 % de aceites vegetales
- (c) 0 - 40 % de leche desnatada en polvo
- (d) 0 - 40 % de proteínas de suero, tal como una WPC o WPI, preferiblemente un 80 % de WPC (WPC80)
- (e) 1 - 50 % de un agente útil de la presente memoria.

Otro ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

- (a) 40 - 60 % de lactosa
- (b) 20 - 30 % de aceites vegetales
- (c) 10 - 15 % de leche desnatada en polvo
- (d) 6 - 8 % de proteínas de suero, preferiblemente WPC80
- (e) 1 - 10 % de un agente útil de la presente memoria.

Otro ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

- (a) 40 - 60 % de lactosa
- (b) 20 - 30 % de aceites vegetales
- (c) 10 - 15 % de leche desnatada en polvo
- (d) 6 - 8 % de proteínas de suero, preferiblemente WPC80
- (e) 1 - 5 % de un agente útil de la presente memoria.

Otro ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

- (a) 40 - 60 % de lactosa
- (b) 20 - 30 % de aceites vegetales
- (c) 10 - 15 % de leche desnatada en polvo
- (d) 6 - 8 % de proteínas de suero, preferiblemente WPC80
- (e) 2 - 5 % de un agente útil de la presente memoria.

Otro ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

- (a) 30 - 60 % de lactosa

(b) 15 - 35 % de aceites vegetales

(c) 0 - 40 % de leche desnatada en polvo

(d) 0 - 40 % de proteínas de suero, preferiblemente WPC80

5 (e) 1 - 50 % de un agente útil de la presente memoria, tal como polvo de suero beta o una fracción del mismo, tal como una fracción obtenida de suero beta enriquecido en lípidos polares o reducido en lípidos neutros o ambos.

Otro ejemplo de una fórmula para lactantes, una fórmula de continuación o una fórmula de crecimiento útil de la presente memoria comprende (p/p)

(a) 40 - 60 % de lactosa

10 (b) 20 - 30 % de aceites vegetales

(c) 10 - 15 % de leche desnatada en polvo

(d) 6 - 8 % de proteínas de suero, preferiblemente WPC80

(e) 1 - 5 % de un agente útil de la presente memoria, tal como polvo de suero beta o una fracción del mismo, tal como una fracción obtenida de suero beta enriquecido en lípidos polares o reducido en lípidos neutros o ambos.

15 Cualquiera de estas fórmulas para lactantes puede comprender también de 0,1 a 4 % p/p, preferiblemente de 2 a 4 % p/p de una o más de una premezcla de vitaminas, una premezcla mineral, lecitina, uno o más antioxidantes, uno o más estabilizantes, o uno o más nucleótidos, o una combinación de dos o más de los mismos. En algunas realizaciones, estas fórmulas para lactantes se pueden formular para proporcionar entre 2700 y 3000 kJ/L.

20 En realizaciones alternativas, las composiciones útiles en la presente memoria se pueden formular para permitir la administración a un sujeto por cualquier vía elegida, incluyendo pero sin limitarse a la administración oral o parenteral (incluyendo la administración tópica, subcutánea, intramuscular e intravenosa).

25 Por lo tanto, una composición farmacéutica útil según la invención se puede formular con un vehículo apropiado farmacéuticamente aceptable (incluyendo excipientes, diluyentes, auxiliares y combinaciones de los mismos) seleccionado con respecto a la vía de administración prevista y la práctica farmacéutica estándar. Por ejemplo, una composición útil según la invención se puede administrar por vía oral como un polvo, líquido, comprimido o cápsula, o tópicamente como una pomada, crema o loción. Las formulaciones adecuadas pueden contener agentes adicionales si fuera necesario, incluyendo agentes emulsionantes, antioxidantes, saborizantes o colorantes, y se pueden adaptar para liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsada o controlada.

30 Las cápsulas pueden contener cualquier material estándar farmacéuticamente aceptable, tal como gelatina o celulosa. Los comprimidos se pueden formular según los procedimientos convencionales mediante compresión de mezclas de los ingredientes activos con un vehículo sólido y un lubricante. Los ejemplos de vehículos sólidos incluyen almidón y azúcar bentonita. Los ingredientes activos también se pueden administrar en forma de un comprimido o una cápsula de cubierta dura que contienen un aglutinante, por ejemplo, lactosa o manitol, una carga convencional y un agente de compresión. Las composiciones farmacéuticas también se pueden administrar por vía parenteral. Los ejemplos de formas farmacéuticas parenterales incluyen soluciones acuosas, solución salina isotónica o glucosa al 5 % del agente activo u otros excipientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos. Las ciclodextrinas, u otros agentes solubilizantes bien conocidos por los familiarizados con la técnica, se pueden utilizar como excipientes farmacéuticos para la administración del agente terapéutico.

40 La eficacia de una composición útil según la invención se puede evaluar tanto *in vitro* como *in vivo*. Véase, p. ej, los ejemplos más adelante. Brevemente, la composición se puede analizar en cuanto a su capacidad para inhibir la infección por rotavirus *in vitro*. Para estudios *in vivo*, la composición se puede dar como alimento o se puede inyectar en un animal (por ejemplo, un ratón) y después se evalúan sus efectos sobre la infección viral. En base a los resultados, se puede determinar un intervalo de dosificación y una vía de administración apropiados.

45 Las composiciones útiles en la presente memoria se pueden usar solas o en combinación con uno o más de otros agentes terapéuticos. El agente terapéutico puede ser un alimento, bebida, aditivo alimentario, aditivo para bebidas, componente alimentario, componente de bebida, suplemento dietético, producto nutricional, alimento médico, nutracéutico, medicamento o producto farmacéutico. El agente terapéutico es preferiblemente efectivo para atenuar uno o más de los síntomas de una infección por rotavirus.

50 Cuando se usa en combinación con otro agente terapéutico, la administración de una composición útil de la presente memoria y el otro agente terapéutico puede ser simultánea o secuencial. La administración simultánea incluye la administración de una forma farmacéutica única que comprende todos los componentes o la administración de formas farmacéuticas separadas, sustancialmente al mismo tiempo. La administración secuencial incluye la

administración según diferentes programas, preferiblemente de modo que haya una superposición en los períodos durante los cuales se proporcionan la composición útil de la presente memoria y otro agente terapéutico.

Los agentes adecuados con los que las composiciones útiles en la presente memoria pueden ser coadministradas incluyen agentes antivirales, teaflavinas, inhibidores de las proteasas, inmunoglobulina de yema de huevo, lípido sintético sialil sulfatado NMSO₃, lactaderina de la leche humana (una glucoproteína de la membrana de los glóbulos de grasa de leche), mucina MUC1, fracción de proteína macromolecular de suero bovino, y combinaciones de las mismas, y otros agentes adecuados conocidos en la técnica.

En una realización, una composición útil de la presente memoria incluye o se administra de forma simultánea o secuencial con componentes de la leche tales como proteínas de suero, fracciones de proteínas de suero (incluyendo fracciones de proteínas de suero ácidas o básicas o una combinación de las mismas), glucomacropéptido, lactoferrina, lactoferrina-hierro, una variante de lactoferrina funcional, un fragmento de lactoferrina funcional, una vitamina D o calcio, o combinaciones de los mismos. Las composiciones útiles que contienen componentes lácteos incluyen composiciones tales como alimentos, bebidas, aditivos alimentarios, aditivos para bebidas, suplementos dietéticos, productos nutricionales, alimentos médicos o nutracéuticos. También se pueden emplear fracciones de leche enriquecidas en estos componentes. Las lactoferrinas, fragmentos y composiciones útiles se describen en las solicitudes de patente internacionales WO 03/082921 y WO 2007/043900, incorporadas ambas a esta memoria como referencia en su totalidad.

Se debe entender que los agentes terapéuticos adicionales enumerados anteriormente (tanto agentes basados en alimentos como agentes farmacéuticos) se pueden emplear también en un método según la invención en donde se administran por separado, simultáneamente o secuencialmente con una composición útil de la presente memoria.

Como se apreciará, la dosis de la composición administrada, el período de administración y el régimen de administración general pueden diferir entre sujetos dependiendo de variables tales como la gravedad de los síntomas de un sujeto, el tipo de trastorno a tratar, el modo de administración elegido, y la edad, el sexo y/o la salud general de un sujeto. Sin embargo, a modo de ejemplo general, los inventores contemplan la administración de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal al día de una composición útil de la presente memoria, preferiblemente de aproximadamente 50 a aproximadamente 500 mg por kg al día, alternativamente de aproximadamente 150 a aproximadamente 410 mg/kg/día o de aproximadamente 110 a aproximadamente 310 mg/kg/día. En una realización, los inventores contemplan la administración de aproximadamente 0,05 mg a aproximadamente 250 mg por kg de peso corporal de una composición farmacéutica útil de la presente memoria.

Se debe apreciar que la administración puede incluir una dosis diaria única o la administración de una serie de dosis discretas divididas, según sea apropiado.

Varios aspectos de la invención se ilustrarán ahora de manera no limitativa por referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplos

35 Análisis de muestras

Los niveles de proteínas se determinaron por el nitrógeno total multiplicado por 6,38. Los niveles de fosfolípidos se determinaron por ³¹P NMR. Los niveles de gangliósidos se determinaron como sigue. Por triplicado, se pesaron aproximadamente 0,1 g de polvo en un tubo de kimax de 16 ml y se registró el peso. Se añadieron 6 ml de metanol y se mezclaron mediante agitación con vórtex durante 1 minuto. La solución se incubó a 50 °C durante 10 minutos, después se añadieron 6 ml de agua y se mezcló mediante agitación con vórtex. La solución se dejó reposar durante 2 horas a 4 °C para sedimentar y se tomó una muestra y se pasó a través de un filtro de 0,45 µm. Se analizó la muestra por HPLC. Se utilizó una columna de Waters Cosmosil™ 5NH2-MS (Nacalai Tesque Inc, USA) con un protector de seguridad NH2 (Phenomenex™ AJO-4302 en un soporte Phenomenex™ KJO-4282). El cartucho protector se cambió todos los días de análisis. Las inyecciones de muestra se inyectaron en la columna y se eluyeron a un caudal de 2 ml/min utilizando disolvente A (90 % de acetonitrilo, 5 % de agua y 5 % de tampón de fosfato 5 mM, pH 5,6) y disolvente B (50 % de acetonitrilo, 45 % de agua y 5 % de tampón fosfato 200 mM pH 5,6). Se utilizó el siguiente gradiente: 100 % de A durante 3,5 min, después desde 100 % de A hasta 55 % de A durante 26,5 min, luego desde 55 % de A hasta 100 % de A durante 1 min y después 100 % de A durante 5 minutos (Wagener *et al.* (1996), *Journal of Lipid Research* 37, 1823-1829). Se generó una curva estándar externa de 0-2 µg de GD3 utilizando suero de leche GD3 (Matreya # 1504). La elución se controló a 203 nm.

Preparaciones de lípidos y otros materiales lácteos.

Las fracciones de grasa de leche (incluido el suero beta), lactoferrina, extracto de leche Sialyl Oligolac™ y los materiales de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche (MFGM) fueron proporcionadas por Fonterra Co-operative Group Limited (Nueva Zelanda). El extracto de leche Sialyl Oligolac™ es un polvo desecado por pulverización derivado de calostro que contiene altos niveles de oligosacáridos naturales de la leche, minerales y ácido siálico libre y unido a carbohidratos (proteínas (tal cual) 8,7 %, lactosa 61,7 %, humedad 3,9 %, grasa 0,08 %, cenizas 18,9 %, ácido siálico libre 25 mg/g, ácido siálico unido 9,3 mg/g). Sialyl Oligolac™ contiene 3' sialil lactosa y

disialil lactosa que son las formas libres del glicano procedentes de los gangliósidos GM3 y GD3 respectivamente. La MFGM y las fracciones de proteínas MFGM de la Tabla 9 se produjeron según métodos conocidos a partir de la grasa de leche de Nueva Zelanda.

AMF y fracciones de AMF

- 5 AMF, las fracciones duras de AMF (SH y SSH), y la fracción blanda de AMF (SSS) proporcionadas por Fonterra Co-operative Group Limited se han descrito anteriormente.

La grasa de leche con alto contenido de CLA que contiene un 5,4 % de CLA se preparó alimentando a las vacas con aceite de pescado y aceite de girasol según métodos conocidos y preparando después la grasa de leche anhidra a partir de la leche producida. Una composición típica de grasa de leche enriquecida en CLA está descrita en la solicitud PCT internacional publicada WO 2005/107736 que se incorpora a la presente memoria como referencia.

Fracciones de fosfolípidos

Las fracciones 7 a 11 descritas en la Tabla 7 anterior y utilizadas en los ejemplos que siguen se produjeron según los métodos descritos en la solicitud de patente internacional publicada WO 2006/041316 (véanse los ejemplos 3 a 6). La fracción 12 se produjo por extracción con dióxido de carbono supercrítico de la fracción de fosfolípido 10 en la Tabla 7. La fracción 15 se produjo por extracción con etanol de polvo de suero beta.

La fracción de fosfolípido PC500™ Concentrado de Fosfolípido (disponible de Fonterra Co-operative Group Limited, Nueva Zelanda) se produce mediante extracción con etanol de polvo de suero beta. El suero beta es la fase líquida producida durante la fabricación de AMF. La fracción de fosfolípido PC500™ es un concentrado de fosfolípido de leche desecada por pulverización con una composición típica de 77-95 % de lípidos totales, de aproximadamente 50 % de lípidos neutros y de aproximadamente 30 % de lípidos polares; y una composición lipídica típica de 1,5-5 % de fosfatidil serina, 12-18 % de fosfatidilcolina, 6-9 % de fosfatidil etanolamina y 6,7-9 % de esfingomielina; y una composición típica de ácidos grasos de 1,8 % de ácido butírico (4:0), 0,3 % de ácido cáprico (10:0), 0,5 % de ácido láurico (12:0), 7,4 % de ácido mirístico (14:0), 14,1 % de ácido miristoleico (14:1), 10 % de ácido pentadecanoico (15:0), 26,0 % de ácido palmítico (16:0), 1,7 % de ácido palmitoleico (16:1), 0,6 % de ácido margárico (17:0), 0,3 % de ácido heptadecenoico (17:1), 11,9 % de ácido esteárico (18:0), 39,0 % de ácido oleico (18:1), 5,0 % de ácido linoleico (18:2), 2,0 % de linolénico (18:3), 0,3 % de ácido araquídico (20:0) y 0,8 % de colesterol.

La fracción de fosfolípido PC600™ Concentrado de Fosfolípido (disponible de Fonterra Co-operative Group Limited, Nueva Zelanda) se produce mediante extracción con acetona a partir de la fracción de fosfolípido PC500™. La fracción de fosfolípido PC600™ es un concentrado de fosfolípido de leche liofilizada con una composición típica de 75 % de lípidos polares, 8,0 % de lípidos neutros, <12 % de cenizas y <4 % de humedad; una composición lipídica típica de 3-4 % de fosfatidil serina, > 36 % de fosfatidilcolina, > 9 % de fosfatidil etanolamina y > 18 % de esfingomielina; y una composición típica de ácidos grasos de 6,6 % de ácido mirístico (14:0), 27,1 % de ácido palmítico (16:0), 1,3 % de ácido palmitoleico (16:1), 2,3 % de ácido margárico (17:0), 14 % de ácido esteárico (18:0), 38,2 % de ácido oleico (18:1), 6,5 % de ácido linoleico (18:2), 2 % de ácido linolénico (18:3), 0,1 % de colesterol y 2 % de otros.

La fracción de fosfolípido PC700™ Concentrado de Fosfolípido (disponible de Fonterra Co-operative Group Limited, Nueva Zelanda) se produce por extracción acuosa (desgomado) a partir de la fracción de fosfolípido PC500™. La fracción de fosfolípido PC700™ es un concentrado de fosfolípido de leche liofilizada con una composición típica de 85 % de lípidos, 10 % de cenizas, 2 % de lactosa y 2,5 % de humedad; una composición lipídica típica de 3 % de fosfatidil serina, 31 % de fosfatidilcolina, 8,7 % de fosfatidil etanolamina y 16,5 % de esfingomielina; y una composición típica de ácidos grasos de 5,4 % de ácido mirístico (14:0), 20,9 % de ácido palmítico (16:0), 1,3 % de ácido palmitoleico (16:1), 0,5 % de ácido margárico (17:0), 10,5 % de ácido esteárico (18:0), 30,5 % de ácido oleico (18:1), 4,3 % de ácido linoleico (18:2), 1,8 % de ácido linolénico (18:3) y 0,5 % de ácido araquidónico.

Fracciones de gangliósidos

Las fracciones 7 a 11 descritas en la Tabla 7 anterior y utilizadas en los ejemplos que siguen se produjeron según los métodos descritos en la solicitud de patente internacional publicada WO 2006/041316 (véanse los ejemplos 3 a 6). La fracción 12 se produjo mediante la extracción con dióxido de carbono supercrítico de la fracción de fosfolípido 10 de la Tabla 7. La fracción 15 se produjo mediante extracción con etanol de suero beta en polvo.

Las fracciones de gangliósidos G500™ y G600™ (disponibles de Fonterra Co-operative Group Limited, Nueva Zelanda) se producen mediante extracción con etanol de polvo de suero beta. El suero beta es la fase líquida producida durante la fabricación de AMF.

La fracción de gangliósidos G500™ es un concentrado de gangliósidos de leche desecado por pulverización al que se ha añadido lactosa y WPC (concentrado de proteínas de suero) para mejorar la fluidez del polvo. La fracción de gangliósidos G500™ tiene una composición típica de lípidos de 34,0 %, humedad 3,2 %, cenizas 5,0 % y lactosa 56,0 %; una composición lipídica típica de gangliósido GD3 de 0,6 % y gangliósido GM3 de 0,5 %; y una composición típica de ácidos grasos de 5,6 % de ácido mirístico (14:0), 18,4 % de ácido palmítico (16:0), 1,2 % de

ácido palmitoleico (16:1), 0,5 % de ácido margárico (17:0), 14,9 % de ácido esteárico (18:0), 31,0 % de ácido oleico (18:1), 3,8 % de ácido linoleico (18:2), 1,5 % de ácido linolénico (18:3) y 0,5 % de ácido araquidónico (20:4).

La fracción de gangliósidos Ganglioside G600™ es un concentrado de gangliósidos de leche desecado por pulverización al que se ha añadido lactosa para mejorar la fluidez del polvo. La fracción de gangliósidos G600™ tiene una composición típica de lípidos de 30,0 %, humedad 3,5 %, cenizas 8,3 % y lactosa 58,0 %; una composición lipídica típica de gangliósido GD3 de 1,4 %, gangliósido GM3 0,3 %, fosfatidil serina 4,5 %, fosfatidilcolina 5,1 %, fosfatidil etanolamina 2,0 % y esfingomielina 1,7 %; y una composición típica de ácidos grasos de 4,7 % de ácido mirístico (14:0), 16,4 % de ácido palmítico (16:0), 1,2 % de ácido palmitoleico (16:1), 0,5 % de ácido margárico (17:0), 17,0 % de ácido esteárico (18:0), 33,4 % de ácido oleico (18:1), 4,2 % de ácido linoleico (18:2), 1,4 % de ácido linolénico (18:3) y 0,6 % de ácido araquidónico (20:4).

Hidrolizados de lípidos

La saponificación parcial se alcanzó añadiendo 800 µl de hidróxido de potasio (al 1,5 % en etanol) a una muestra de 200 mg de una preparación de lípidos. La solución resultante se mezcló durante 10 minutos y se neutralizó a pH 7 con ácido clorhídrico (al 10 %). A continuación, se hizo pasar una corriente de gas nitrógeno por la solución.

Cultivo celular, propagación de virus y materiales de ensayo.

Todos los materiales de cultivo celular se adquirieron de Invitrogen. La cepa de rotavirus Wa (humana) fue un regalo de John Taylor, Auckland University. Las células HT29 se adquirieron de ATCC (HTB-38). Los monosialogangliosidos GM3 cat # 1503 y disialogangliosidos GD3 cat # 1504 se adquirieron de Matreya (Pleasant Gap, PA, USA).

Propagación del rotavirus

La línea celular HT29 se usó para propagar la cepa de rotavirus humano Wa (resistente a la neuraminidasa) en presencia de 1 µg/ml de tripsina en medio esencial mínimo de Dulbecco (DMEM) suplementado con 10 % de suero de ternera fetal y penicilina/estreptomicina (100 µg/ml/100 unidades/ml). El rotavirus se recogió mediante congelación y descongelación dos veces, se centrifugó a 750 g para eliminar los residuos celulares y se almacenó a -80 °C. Se analizó el rotavirus y se encontró que contenía 1 x 10⁶ unidades formadoras de placas (pfu)/ml.

Ensayo de infección por rotavirus

El ensayo de infección utilizado se basó en una serie de ensayos publicados (Scott *et al* 1979; Smith *et al* 1979; Guarino *et al* 1996; Superti *et al* 2001). Las células HT29 confluentes cultivadas en DMEM (sembradas a 3x10⁵/ml en placas de 96 pocillos) se lavaron dos veces con PBS estéril. Se hicieron diluciones al doble de cada uno de los productos a ser cribados (concentración inicial 5 mg/ml) en la placa en 50 µl de volumen de DMEM. Se añadió el virus (10⁴ pfu/pocillo) a todos los pocillos, excepto las células de control solamente y se incubaron entonces las placas durante dos horas en CO₂ al 5 % a 37 °C. Otros controles incluyeron virus más células, solo lípidos, GM3 puro y GD3 puro. Después de una incubación de dos horas, se añadió tripsina a todos los pocillos que contenían virus a una concentración de 2 µg/ml - esta etapa escinde VP4 a los polipéptidos VP8 y VP5 y es necesaria para que el virión penetre en el interior de las células. Se incubaron las placas a 37 °C en CO₂ al 5 % durante siete días y se comprobaron diariamente para determinar el efecto citopático en los pocillos control con sólo virus. Se retiraron los medios y se lavaron las placas con PBS estéril, se secaron al aire y se fijaron con metanol durante un minuto. Se secaron las placas al aire y después se tiñeron con 100 µl/pocillo de cristal violeta al 1 % (351884W, BDH, Inglaterra) durante cinco minutos. Se lavaron las placas cuatro veces con agua estéril para eliminar el exceso de tinción. Se añadieron 100 µl de ácido acético por pocillo para solubilizar la tinción y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 595 nm en un lector de placas Biorad ELISA. Cada muestra se analizó en un mínimo de tres ocasiones separadas y se calculó el porcentaje de células no infectadas.

Estadística

Se realizó el análisis estadístico utilizando una prueba t de Student independiente (InStat para MacIntosh) para comparar el efecto de los productos lipídicos derivados de la leche bovina con el control de sólo virus a la dilución más baja del producto.

Ejemplo 1: Los lípidos lácteos inhiben la infección por rotavirus *in vitro*

Se cribaron dieciséis materiales de ensayo lipídicos en cuanto a su capacidad para prevenir la infección de las células por rotavirus. Ninguno de los materiales de ensayo lipídicos o de los materiales comparativos fueron tóxicos para las células HT29. Ambos gangliósidos GD3 y GM3 mostraron actividad en un intervalo de concentraciones (Tabla 8). De los dieciséis materiales de ensayo lipídicos, catorce mostraron actividad en la prevención de la infección viral de las células en un intervalo de concentraciones (Tabla 9)

Tabla 8: Porcentaje de células HT29 no infectadas por rotavirus en presencia de GD3 y GM3 a diferentes concentraciones

Muestra	250 µg/ml	125 µg/ml	62,5 µg/ml	31,25 µg/ml	15,625 µg/ml	7,8125 µg/ml
Material de gangliósidos						
GD3	57 +/- 1 ***	ND	59 +/- 1,4 ***	40 +/- 2,5 ***	31 +/- 1,5	ND
GM3	ND	49 +/- 8	ND	43 +/- 10 **	33 +/- 2,5	34 +/- 1,5
* significativo a p <0,01 en comparación con el control de sólo virus; ** significativo a p <0,005; *** significativo a p <0,001; Las muestras sin valor de p no son significativamente diferentes del control de sólo virus, ND = no hecho.						

5 Tabla 9: Porcentaje de células HT29 no infectadas por rotavirus en presencia de diferentes fracciones de lípidos de leche bovina a diferentes concentraciones

Muestra	5 mg/ml	2,5 mg/ml	1,25 mg/ml	0,625 mg/ml	0,3125 mg/ml
Materiales comparativos					
Lactoferrina	67 +/- 4 ***	87 +/- 4 ***	73 +/- 12 ***	65 +/- 8 ***	60 +/- 8 **
Sialil oligolac	20 +/- 8	24 +/- 2	37 +/- 4	35 +/- 8	35 +/- 0,7
MFGM	17 +/- 1,5	18 +/- 3,5	21 +/- 6	23 +/- 7	24 +/- 8
Proteína MFGM	51 +/- 1,4	35,5 +/- 2	26 +/- 3	31 +/- 4	35 +/- 1,4
Materiales de ensayo					
1. Grasa de leche					
AMF	44 +/- 19	26 +/- 3	35 +/- 1 *	41 +/- 2 ***	42 +/- 5 **
2. Fracciones de grasa de leche					
SH	23 +/- 9	40 +/- 10	45 +/- 10	40 +/- 5	42 +/- 8 *
SSH	28 +/- 5	34 +/- 6	47 +/- 17 *	41 +/- 11 *	39 +/- 11 *
SSS	31 +/- 4	38 +/- 5 **	41 +/- 2 ***	44 +/- 2 ***	37 +/- 5 **
3. Grasa de leche de alto contenido en CLA					
Lote 1 (2002)	27 +/- 13	63 +/- 35 **	44 +/- 13 **	44 +/- 15 **	49 +/- 13 ***
Lote 2 (2005)	30 +/- 9	46 +/- 9 ***	45 +/- 7 ***	47 +/- 9 ***	42 +/- 8 ***
4. Suero beta					
Lote 1	58 +/- 4 ***	56 +/- 7 ***	56 +/- 10 ***	46 +/- 11 ***	44 +/- 7 ***
5. Fracciones de fosfolípidos					
PC500	41 +/- 14 *	56 +/- 13 ***	46 +/- 9 ***	43 +/- 9 ***	41 +/- 8 **
PC600	41 +/- 18 *	55 +/- 16 ***	42 +/- 13 *	45 +/- 18 *	46 +/- 13 **
PC700	50 +/- 45	61 +/- 17 ***	62 +/- 25 ***	51 +/- 10 ***	44 +/- 9 ***
6. Fracciones de gangliósidos					
Fracción 8	61 +/- 2 ***	54 +/- 3 **	36 +/- 1,1 *	23 +/- 3	23 +/- 12
Fracción 9	40 +/- 1 *	35 +/- 7	47 +/- 15	36 +/- 2	30 +/- 2
Fracción 11	45 +/- 3 *	48 +/- 1 *	36 +/- 0,7	25 +/- 1	17 +/- 2

Muestra	5 mg/ml	2,5 mg/ml	1,25 mg/ml	0,625 mg/ml	0,3125 mg/ml
G500	60 +/- 12 ***	66 +/- 5 ***	56 +/- 7 ***	52 +/- 9 ***	44 +/- 4 ***
G600	44 +/- 17 *	26 +/- 14	35 +/- 4	41 +/- 4 ***	42 +/- 4 ***
7. Fracciones de gangliósidos hidrolizados					
G500	97 +/- 21 ***	20 +/- 5	33 +/- 2	22 +/- 6	22 +/- 6
G600	25 +/- 0,7	18 +/- 3	21 +/- 4	22 +/- 6	22 +/- 5
* significativo a p <0,01 en comparación con el control de sólo virus; ** significativo a p <0,005; *** significativo a p <0,001; Las muestras sin valor de p no son significativamente diferentes del control de sólo virus.					

5 Cinco materiales de ensayo redujeron significativamente la tasa de infección a una concentración de 0,3125 mg/ml a p <0,001 (Tabla 9). Estos materiales de ensayo fueron grasa de leche enriquecida con CLA, suero beta, la fracción de fosfolípidos PC700™ y las fracciones de gangliósidos. Cuatro materiales de ensayo redujeron significativamente la tasa de infección a una concentración de 0,3125 mg/ml a p <0,005. Estos materiales de ensayo fueron AMF, una fracción de grasa de leche blanda (SSS) y las fracciones de fosfolípidos PC500™ y PC600™. Tres materiales de ensayo redujeron significativamente la tasa de infección a una concentración de 0,3125 mg/ml a p <0,01. Estos materiales de ensayo fueron otras fracciones de grasa de leche SH y SSH, y una fracción de gangliósidos hidrolizada. Los productos restantes no fueron significativamente diferentes del control de virus. Muestras purificadas de GM3 y GD3 protegieron las células de la infección del virus a concentraciones tan bajas como 31,25 µg/ml (43 +/- 10 % y 40 +/- 3 % respectivamente; p <0,005). Sobre la base de la concentración de gangliósidos, la fracción G600™ es diez veces más eficaz que GD3 puro a la concentración más baja de G600™.

Ejemplo 2: Los lípidos lácteos pueden tratar o prevenir la diarrea causada por la infección por rotavirus

15 Se puede utilizar un modelo animal de rata bebé para la infección por rotavirus humano para determinar la eficacia de los productos *in vivo* (véase por ejemplo, Ciarlet *et al* 2006).

20 Se alimentaron crías de rata de cinco días en grupos de diez con cuatro materiales de ensayo de lípidos diferentes a una concentración de 3 g/kg de peso corporal mediante administración en la cavidad oral en un volumen de 100 µl. El resto de alimentación provino de la rata madre lactante. Los días 1 y 2, se administraron a las crías de rata dos dosis de 100 µl (por la mañana y por la noche) de la cepa Wa de rotavirus humano. Las ratas de control negativo se inocularon con 100 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS), pero no se infectaron con el virus. Las ratas de control positivo se inocularon con 100 µl de PBS y después se infectaron con virus. El experimento se realizó durante 10 días después de la inoculación con rotavirus. Los experimentos se realizaron por duplicado.

25 Se pesaron las ratas diariamente para determinar la tasa de infección. La recogida de muestras fecales individuales en recipientes previamente pesados y la determinación de la diarrea se realizaron una vez al día. La diarrea se puntuó diariamente de 1 a 4 en base al color, consistencia y cantidad de heces de la siguiente manera.

1. Heces normales - color (marrón) y consistencia normales.
2. Diarrea leve - color anormal (verde o verde amarillento) pero consistencia normal.
3. Diarrea moderada - color normal (marrón) pero consistencia acuosa.
4. Diarrea severa - color anormal y consistencia acuosa.

30 Las muestras fecales se procesaron como una solución al 10 % en PBS frío (4 °C) que contenía penicilina (200 U/ml), estreptomicina (200 µl/ml) y gentamicina (2 mg/ml), y se analizaron alícuotas de 10 µl por duplicado en cultivo celular como se ha descrito anteriormente para determinar los niveles de rotavirus infeccioso. Estos niveles se expresaron como el porcentaje de células no infectadas en el ensayo *in vitro*: % de células no infectadas = (OD de la muestra de ensayo) * 100/(OD de control negativo), donde OD es la densidad óptica de la solución en el pocillo.

35

Tabla 10: Gravedad de la diarrea en ratas alimentadas con grasa de leche con alto contenido en CLA

	Control - sin virus		Infectado		Grasa de leche con alto contenido en CLA	
Días post- infección	Número	Gravedad	Número	Gravedad	Número	Gravedad
3	4	1	7	1	6	1
4	5	1	8	3	5	1
5	5	1	5	2	5	2
6	5	1	8	3	3	2
7	5	1	4	2	2	2
8	4	1	5	2	2	2

Tabla 11: Gravedad de la diarrea en ratas alimentadas con la fracción de grasa de leche G600™

	Control - sin virus		Infectado		G600™	
Días post-infección	Número	Gravedad	Número	Gravedad	Número	Gravedad
3	5	1	6	2	6	1
4	5	1	4	2	4	1
5	5	1	4	2	4	1
6	6	1	7	3	7	1
7	4	1	4	3	4	1
8	1	1	4	2	4	1

5 Tabla 12: Gravedad de la diarrea en ratas alimentadas con una fracción de suero beta

	Control - sin virus		Infectado		Fracción 10		Fracción 8	
Días post- infección	Nº	Gravedad	Nº	Gravedad	Nº	Gravedad	Nº	Gravedad
3	0		10	2	6	2	5	2
4	0		7	3	9	1	8	2
5	2	1	2	2	4	1	4	2
6	1	1	4	3	7	1	6	2
7	2	1	3	2	6	1	7	2
8	1	1	4	2	9	1	8	2
9	10	1	10	2	10	1	10	2

Las muestras fecales se analizaron en el ensayo rotaviral *in vitro* para determinar el porcentaje de células no infectadas. Las diferencias entre el tratamiento y el control infectado para las ratas alimentadas con grasa de leche con alto contenido de CLA (Figura 1A) fueron significativas los días 1 (P <0,001), 3 (P <0,025), 7 (P <0,05) y 8 (P <0,025). Las diferencias entre el tratamiento y el control infectado para las ratas alimentadas con la fracción G600™ (Figura 1B) fueron significativas los días 3 (P <0,001), 4 (P <0,001), 6 (P = 0,001), 7 (P <0,001) y 8 (P = 0,001).

10

Aplicación industrial

La presente invención tiene utilidad en el tratamiento o prevención de la infección por rotavirus. Las composiciones descritas se pueden emplear como alimentos, bebidas, aditivos alimentarios, aditivos para bebidas, suplementos dietéticos, productos nutricionales, alimentos médicos, nutracéuticos, medicamentos o productos farmacéuticos.

- 5 Los expertos en la técnica entenderán que la descripción anterior se proporciona solamente a modo de ilustración y que la invención no se limita a ella.

Referencias

- Ainscough, EW, Brodie A, M.; Plowman J E. The chromium, manganese, cobalt and copper complexes of human lactoferrin. *Inorganica Chimica Acta* 1979,33 (2) 149-53.
- 10 Astaire J. C., Ward R., German J. B., and Jimenez-Flores R. (2003) Concentration of Polar MFGM Lipids from Buttermilk by Microfiltration and Supercritical Fluid Extraction *J. Dairy Sci.* 86, 2297-2307
- Bojsen A, J Buesa, R Montava, A S Kvistgaard, M B Kongsbak, T E Peterson, C W Heegaard and J T Rasmussen 2007 Inhibitory Activities of Bovine macromolecular Whey proteins on Rotavirus Infections *In vitro* and *In vivo* *J Dairy Sci* 90:66-74.
- 15 Bylund, G. (Ed.) Dairy processing handbook. 1995 Tetra Pak Processing Systems AB, S-221 86 Lund, Sweden.
- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L. and Pariza, M.W. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognised class of anticarcinogens, *Journal of Food composition and Analysis*, 5, 185-197, 1992.
- 20 Max Ciarlet, Margaret E Conner, Milton J Finegold and Mary K Estes 2002. Group A Rotavirus Infection and age-Dependent Diarrheal Disease in Rats: a New Animal Model to Study the Pathophysiology of Rotavirus Infection. *Journal of Virology* 76 (1): 41-57
- Scott M. Clark, Bill B. Barnett and Rex S. Spendlove 1979. Production of high-titer bovine rotavirus with trypsin. *Journal of Clinical Microbiology* Mar: 413-417.
- 25 Delorme C, Brüssow H, Sidoti J, Roche N, Karlsson KA, Neeser JR, Teneberg S., Glycosphingolipid binding specificities of rotavirus: identification of a sialic acid-binding epitope. *J Virol.* 2001 Mar;75(5):2276-87.
- Fox PF, McSweeney PLH (eds), *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2 - Lipids*, 3rd Ed, Springer Science + Business Media, Inc., 2006.
- Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH, Skipper HE (1966) Quantitative comparison of toxicity to anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey and man. *Cancer Chemother Rep* 50: 219-244.
- 30 Guarino A, Casola A, Bruzzese E, Saini M, Nitsch L, Rubino A. 1996. Human serum immunoglobulin counteracts rotaviral infection in Caco-2 cells. *Pediatric Research* 40(6): 887-7.
- Guo CT, Nakagomi O, Mochizuki M, Ishida H, Kiso M, Ohta Y, Suzuki T, Miyamoto D, Hidari KI, Suzuki Y., Ganglioside GM(1a) on the cell surface is involved in the infection by human rotavirus KUN and MO strains. *J Biochem (Tokyo)*. 1999 Oct;126(4):683-8.
- 35 Illingworth, D., Fractionation of fats. In *Physical Properties of Lipids* (Marangoni A G & Narine S S, Eds), pp. 411-448. Marcel Dekker, New York (2002).
- Kanno C & Dong-Hyun K (1990). A simple procedure for the preparation of bovine milk fat globule membrane and a comparison of its composition, enzymatic activity, and electrophoretic properties with these prepared by other methods. *Agric. Biol. Chem.*, 54(11):2845-2854.
- 40 Kanno C, Shimizu M & Yamachi K (1975). Isolation and physiochemical properties of a soluble glycoprotein fraction of milk fat globule membrane. *Agric. Biol. Chem.*, 39(9):1835-1842.
- Takahashi Kazuo, Katzutaka Ohashi, Yurika Abe, Shuichi Mori, Koki Taniguchi, Takusaburo Ebina, Osamu Nakagomi, Masaki Terada and Shiro Shigeta 2002. Protective Efficacy of a Sulfated Sialyl Lipid (NMSO3) against Human Rotavirus-Induced Diarrhea in a Mouse Model. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 420 -424.
- 45 Kvistgaard AS, Pallesen LT, Arias CF, Lopez S, Petersen TE, Heegaard CW, Rasmussen JT., Inhibitory effects of human and bovine milk constituents on rotavirus infections. *J Dairy Sci.* (2004) 87(12):4088-96.
- Méndez E, López S, Cuadras MA, Romero P, Arias CF., Entry of rotaviruses is a multistep process. *Virology*. 1999 Oct 25;263(2):450-9.

- Parashar, UD, EG Hummelman, JS Bresee, MA Miller and RI Glass 2003. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children *Emerg Infect Dis* 9:565-572
- Isa Pavel, Carlos F Arias, Susana Lopez 2006. Role of sialic acids in rotavirus infection. *Glycoconj J* 23:27-37
- 5 Peterson JA, Scallan CD, Ceriaii RL, Hamosh M 2001. Structural and functional aspects of three major glycoproteins of the human milk fat globular membrane. *Adv Exp Med Biol* 501:179-87
- Pruthi T D, Narayanan K M & Bhaleerao V R (1970). The role of milk phospholipids in the autoxidation of butterfat - I. *Indian Journal of Dairy Science*, 23:248-251.
- Rombaut R, Camp JV, Dewettinck K., Analysis of phospho- and sphingolipids in dairy products by a new HPLC method. *J Dairy Sci.* (2005) 88(2):482-8.
- 10 Rombaut R, Dejonckheere V, Dewettinck K., Microfiltration of butter serum upon casein micelle destabilization. *J Dairy Sci.* (2006)(a) 89(6):1915-25.
- Rombaut R., Van Camp J. & Dewettinck K., Phospho- and sphingolipid distribution during processing of milk, butter and whey, *International Journal of Food Science & Technology*, (2006)(b) 41(4):435-443.
- 15 Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatis, T. (1989). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbour Lab Press, Cold Spring Harbour, New York.
- Eric M. Smith, Mary Kolb Estes, David Y. Graham and Charles P. Gerba 1979. A plaque assay for the simian rotavirus SA11. *Journal of General Virology* 43: 513-519.
- 20 Fabiana Superti, Rosa Siciliano, Barbara Rega, Francesco Giansanti, Piera Valenti, Giovanni Antonini 2001. Involvement of bovine lactoferrin metal saturation, sialic acid and protein fragments in the inhibition of rotavirus infection. *Biochimica et Biophysica Acta* 1528:107-115.
- van Veen HA, Geerts ME, van Berkel PH, Nuijens JH. The role of N-linked glycosylation in the protection of human and bovine lactoferrin against tryptic proteolysis. *Eur. J. Biochem.* (2004) 271(4): 678-684.
- Wolber FM, A M Broomfield, L Fray, M L Cross and D Dey 2005. Supplemental dietary Whey Protein Concentrate Reduces Rotavirus-Induced Symptoms in Suckling Mice. *Journal of Nutrition* 135: 1470 1474
- 25 Yung A, McDonald M, Spelman D, Street A, Johnson P, Sorrell T, McCormack J, "Infectious Diseases: A Clinical Approach", Second edition 2005. Ed. (IP Communications PTY Ltd., Victoria, Australia). See page 129, Chapter 11, "Diarrhoea and Vomiting".

REIVINDICACIONES

1. Un agente que comprende

(a) una o más composiciones de grasa de leche bovina que comprenden de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 85 % p/p de fosfolípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, seleccionadas de

(i) una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con fosfolípidos,

(ii) una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con gangliósidos,

(iii) uno o más hidrolizados de cualquiera de uno o más de (i) a (ii), y

(iv) una combinación de cualquiera de dos o más de (i) a (iii);

para uso en el tratamiento o prevención de la infección por rotavirus en un sujeto, en donde el rotavirus es un rotavirus resistente a la neuraminidasa.

2. El agente para el uso de la reivindicación 1, en donde el rotavirus es un rotavirus humano.

3. El agente para el uso de la reivindicación 1 o 2, en donde el sujeto es un ser humano, un niño, un lactante, un niño inmunodeprimido, un lactante inmunodeprimido, un adulto, un adulto mayor de 55 años, un adulto inmunodeprimido o un adulto inmunodeprimido mayor de 55 años.

4. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para el tratamiento o la prevención de la infección por rotavirus diarreogénico o para el tratamiento o la prevención de la diarrea causada por la infección de rotavirus.

5. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente comprende además grasa de leche anhidra (AMF) que comprende de aproximadamente 40 a aproximadamente 100 % de lípidos.

6. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende una o más fracciones de grasa de leche bovina enriquecidas con fosfolípidos o una o más fracciones de grasa de leche bovina enriquecidas con gangliósidos o una combinación de las mismas, para el tratamiento o la prevención de la infección por rotavirus en un sujeto.

7. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la fracción enriquecida con fosfolípidos se selecciona de suero de leche, una o más fracciones de suero de leche, suero de mantequilla, una o más fracciones de suero de mantequilla, suero beta, una o más fracciones de suero beta, una o más fracciones de esfingolípidos, una o más fracciones de lípidos de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche, una o más fracciones de fosfolípidos, una o más fracciones de lípidos complejos y cualquier combinación de dos o más de ellas, en donde el suero beta se separa de una corriente láctea que contiene más del 60 % de grasa, estando constituida la corriente láctea por la crema que ha sufrido una inversión de fase pasando de una emulsión de aceite en agua a agua en aceite durante la producción de aceite de mantequilla o de grasa de leche anhidra a partir de la crema.

8. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la fracción enriquecida con gangliósidos se selecciona de suero de leche, una o más fracciones de suero de leche, suero de mantequilla, una o más fracciones de suero de mantequilla, suero beta, una o más fracciones de suero beta, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GD3, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GM3, una o más fracciones de suero beta enriquecidas con GD3 y GM3, y cualquier combinación de dos o más de ellas, en donde el suero beta se separa de una corriente láctea que contiene más de 60 % de grasa, estando constituida la corriente láctea por la crema que ha sufrido una inversión de fase pasando de una emulsión de aceite en agua a agua en aceite durante la producción de aceite de mantequilla o de grasa de leche anhidra a partir de crema.

9. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además de la grasa de leche bovina anhidra (AMF), una o más fracciones de AMF, o una combinación de las mismas, para el tratamiento o la prevención de la infección por rotavirus en un sujeto.

10. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente comprende además una fracción de AMF seleccionada de una o más fracciones de grasa de leche dura, una o más fracciones de grasa de leche blanda, una combinación de fracciones de grasa de leche dura, una combinación de fracciones de grasa de leche blanda, una combinación de fracciones de grasa de leche dura y fracciones de grasa de leche blanda, y cualquier combinación de dos o más de ellas.

11. El agente para el uso de la reivindicación 10, en donde la AMF comprende de aproximadamente 98 a aproximadamente 100 % de grasa de leche.

12. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde la fracción comprende

(a) de aproximadamente 15 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, o

5 (b) de aproximadamente 15 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 65 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 70 % p/p de fosfolípidos y de aproximadamente 0 a aproximadamente 2,5 % p/p de gangliósidos.

13. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde la fracción comprende

10 (a) de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de proteínas, de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de proteínas MFGM, y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 0,9 % p/p gangliósidos, o

15 (b) de aproximadamente 40 a aproximadamente 60 % p/p de proteínas, de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 20 % p/p de proteínas MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,0 % p/p gangliósidos, o

20 (c) de aproximadamente 50 a aproximadamente 70 % p/p de proteínas, de aproximadamente 12 a aproximadamente 32 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de esfingomielina y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de proteínas MFGM, y de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2,5 % p/p gangliósidos, o

25 (d) de aproximadamente 0 a aproximadamente 10 % p/p de proteínas, de aproximadamente 85 a aproximadamente 97 % p/p de lípidos, de aproximadamente 25 a aproximadamente 35 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 7 a aproximadamente 13 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 9 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de proteínas MFGM, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de gangliósidos, o

30 (e) de aproximadamente 10 a aproximadamente 15 % p/p de proteínas, de aproximadamente 80 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 60 a aproximadamente 80 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 18 a aproximadamente 28 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 10 a aproximadamente 20 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 12 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilinositol, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de proteínas MFGM, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, o

40 (f) de aproximadamente 75 a aproximadamente 99 % p/p de lípidos, de aproximadamente 15 a 35 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 5 a aproximadamente 15 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 4 a aproximadamente 15 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 2 % p/p de fosfatidilinositol, o

45 (g) de aproximadamente 75 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 50 a aproximadamente 90 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 45 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 25 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidilserina, y de aproximadamente 0,5 a 4 % p/p de fosfatidilinositol o

50 (h) de aproximadamente 80 a aproximadamente 90 % p/p de lípidos, de aproximadamente 65 a aproximadamente 75 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 12 a aproximadamente 22 % p/p de esfingomielina, y de aproximadamente 1 a aproximadamente 3 % p/p de fosfatidilserina, o

55 (i) de aproximadamente 25 a aproximadamente 45 % p/p de lípidos, de aproximadamente 10 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 3 a aproximadamente 7 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 5 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 2 a aproximadamente

- 12 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilinositol, y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1 % p/p de gangliósidos, o
- 5 (j) de aproximadamente 20 a aproximadamente 40 % p/p de lípidos, de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 % p/p de fosfolípidos, de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 % p/p de fosfatidilcolina, de aproximadamente 2 a aproximadamente 8 % p/p de fosfatidiletanolamina, de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 % p/p de esfingomielina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 % p/p de fosfatidilserina, de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 % p/p de fosfatidilinositol, y de aproximadamente 0,8 a aproximadamente 3,5 % p/p de gangliósidos.
- 10 14. El agente para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde el agente comprende además lactoferrina, lactoferrina-hierro, un fragmento de lactoferrina, o un fragmento de lactoferrina-hierro, o una combinación de cualquiera de dos o más de los mismos.
- 15 15. El uso del agente como se indica en una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, comprendiendo el agente (a) una o más composiciones de grasa de leche bovina que comprenden de aproximadamente 5 a aproximadamente 95 % p/p de lípidos, de aproximadamente 0 a aproximadamente 75 % p/p de proteínas, de aproximadamente 5 a aproximadamente 85 % p/p de fosfolípido y de aproximadamente 0 a aproximadamente 5 % p/p de gangliósidos, seleccionadas de
- i. una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con fosfolípidos,
 - ii. una o más fracciones de grasa de leche enriquecidas con gangliósidos,
 - iii. uno o más hidrolizados de cualquiera de uno o más de (i) a (ii), y
- 20 una combinación de cualquiera de dos o más de (i) a (iii) para la fabricación de un medicamento para el uso en el tratamiento o prevención de la infección por rotavirus en un sujeto, en donde el rotavirus es un rotavirus resistente a la neuraminidasa.

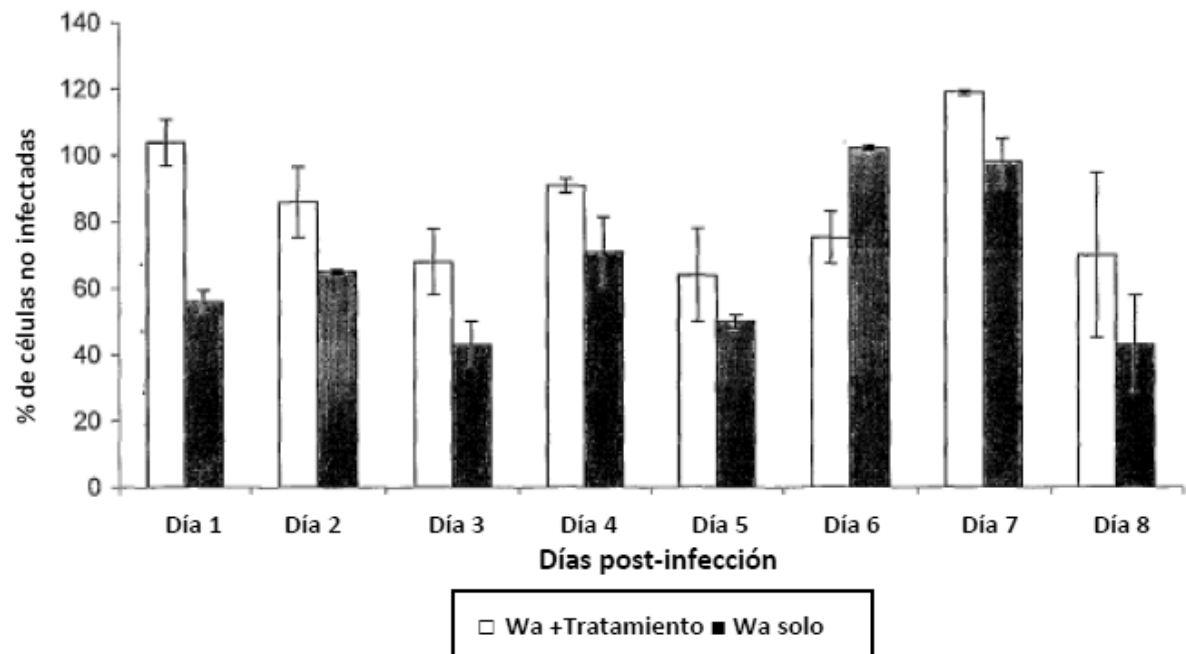


Figura 1A

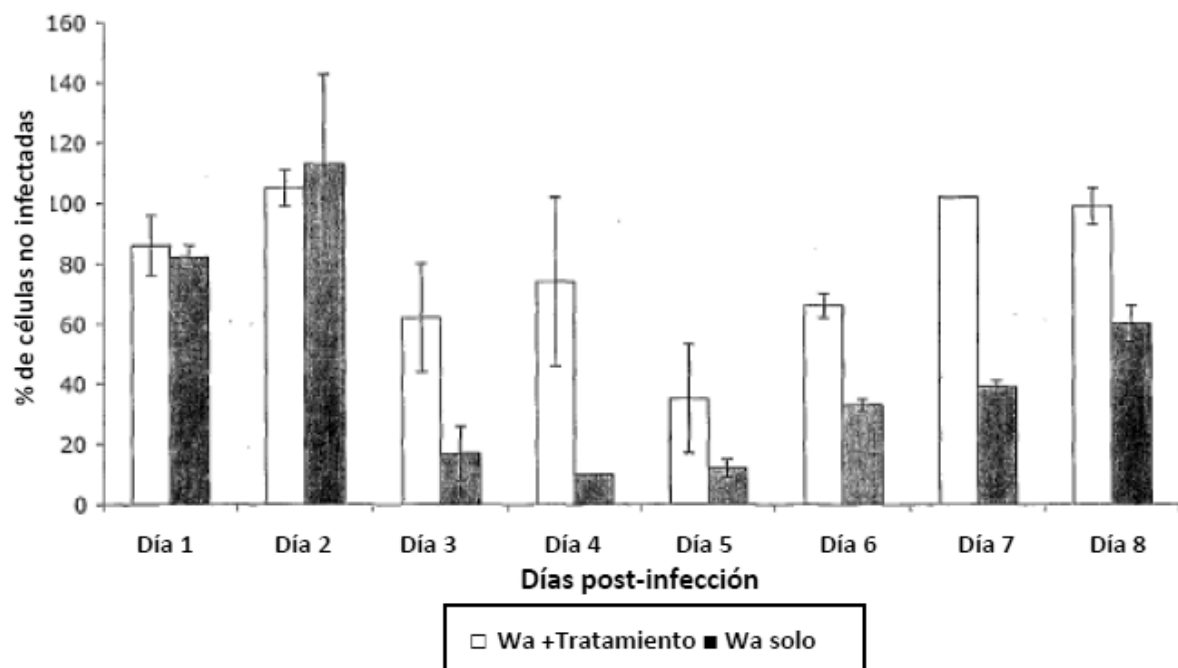


Figura 1B