

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 758**

51 Int. Cl.:

**A23K 20/163** (2006.01)  
**A23L 33/00** (2006.01)  
**A23L 33/19** (2006.01)  
**A23L 33/21** (2006.01)  
**A23C 9/13** (2006.01)  
**A61K 38/01** (2006.01)  
**A61K 35/20** (2006.01)  
**A23K 20/147** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.11.2015 PCT/EP2015/076097**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **26.05.2016 WO16078956**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2015 E 15790998 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3220751**

54 Título: **Complejos de micelas de proteína de suero de leche y síntesis de proteínas musculares**

30 Prioridad:

**19.11.2014 EP 14193837**

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

**23.06.2020**

73 Titular/es:

**SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A. (100.0%)  
Entre-deux-Villes  
1800 Vevey, CH**

72 Inventor/es:

**BREUILLE, DENIS;  
POUTEAU, ETIENNE;  
POPA NITA, SIMINA FLORENTINA y  
DONATO-CAPEL, LAURENCE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 768 758 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**

Complejos de micelas de proteína de suero de leche y síntesis de proteínas musculares

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al tratamiento o prevención de condiciones relacionadas con la reducción de la masa muscular o la reducción de la tasa de síntesis de proteínas musculares. Un objeto de la invención es una composición que comprende complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para su uso en el tratamiento o  
10 prevención de una condición seleccionada del grupo que consiste en sarcopenia y atrofia muscular. Otros aspectos de la invención se refieren al uso no terapéutico de una composición que comprende complejos de micelas y pectinas de proteína de suero de leche y una composición alimentaria. La invención se refiere a las reivindicaciones anexas.

## 15 Antecedentes de la invención

La pérdida de masa muscular y fuerza muscular disminuye considerablemente la calidad de vida de los pacientes que sufren de una condición tal ya que se vuelven incapaces de realizar ciertas tareas físicas y se incrementa el riesgo de accidentes relacionados con tales tareas físicas como por ejemplo caminar. Uno puede distinguir dos condiciones principales que conducen a una pérdida de masa muscular y fuerza, uno es la atrofia muscular y el otro es sarcopenia.  
20 La atrofia muscular asociada a la enfermedad es el resultado de la comorbilidad de varias enfermedades comunes, como el cáncer, el SIDA, la insuficiencia cardíaca congestiva, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y otras. El desuso de los músculos por la falta de ejercicio físico durante un período de tiempo más largo también conducirá a la atrofia muscular. Por lo que, particularmente los pacientes postrados en cama pueden tener un desgaste muscular significativo. Por otra parte, el hambre conduce finalmente a la atrofia muscular como se puede observar, por ejemplo,  
25 en pacientes con sobrepeso en una dieta estricta de pérdida de peso.

La sarcopenia se relaciona con la disminución gradual en la capacidad de mantener la masa muscular, la funcionalidad y la fuerza derivada de la edad.

La pérdida de masa muscular se produce por un cambio en el equilibrio normal entre la síntesis de proteínas y la degradación de proteínas. Durante la atrofia muscular asociada a la enfermedad, por ejemplo, hay una regulación hacia abajo de las vías de síntesis de proteínas, y una activación de las vías de descomposición de proteínas (Sandri M, 2008, Physiology 23:160-170). Dado que la ausencia de aminoácidos de construcción de músculos, particularmente de los aminoácidos de cadena ramificada, puede contribuir a la pérdida de músculo, el suministro de suficientes aminoácidos puede ser útil en la regeneración de tejido muscular dañado o atrofiado. Los aminoácidos de cadena  
35 ramificada (AACR), incluyendo leucina, isoleucina y valina, son críticos en este proceso. Por lo tanto, la nutrición que conduce a una hiperaminoacidemia sostenida, es decir, una concentración elevada de aminoácidos en el plasma, especialmente de los AACR y otros aminoácidos esenciales, es esencial para estimular la síntesis de proteínas musculares de un paciente que lo necesita.

Estudios anteriores demostraron que la ingesta de una comida mixta típicamente estimula la síntesis de proteínas musculares esqueléticas y que un suministro adecuado de aminoácidos es esencial. Por lo tanto, estudios recientes sugieren que es el suministro de AACR y particularmente de la leucina, que modulan la respuesta de síntesis proteica en el músculo esquelético en respuesta a la alimentación (Garlick PJ et al., 1988, Biochem J 254:579-584; Anthony JC et al., 1999, J Nutr 129:1102-1106; Crozier SJ et al., 2005, J Nutr 135:376-382). Investigaciones adicionales indicaron que el contenido de leucina de una fuente de proteína seleccionada de una comida es un indicador importante de la calidad de la proteína en lo que se refiere a la estimulación aguda de la síntesis de proteínas musculares (Norton LE et al., 2009, J Nutr 139:1103-1109).

Tang J.E. et al. (2009, J Appl Physiol 107:987-992) investigaron la respuesta de la síntesis de proteínas musculares esqueléticas en hombres jóvenes tras la ingestión de tres proteínas dietéticas distintas pero de alta calidad, es decir, suero de leche, caseína micelar y soja, en reposo y después del ejercicio de resistencia. Por lo tanto, se describió que el consumo de proteínas de suero de leche estimuló la síntesis de proteínas musculares en mayor grado que la caseína, tanto en reposo como después del ejercicio de resistencia. Las proteínas de suero de leche estimularon  
55 también un aumento significativamente mayor en la síntesis muscular que las proteínas de soja, que estaba en congruencia con trabajos anteriores de los mismos autores. Llegaron a la conclusión de que las proteínas de suero de leche estimulan la síntesis de proteínas del músculo esquelético en mayor medida que las proteínas de caseína o soja, tanto en reposo como después del ejercicio de resistencia.

EP2583563 demostró que las micelas de proteína de suero de leche pueden utilizarse en el tratamiento o prevención de afecciones relacionadas con una concentración reducida de aminoácidos plasmáticos en un paciente, por ejemplo, atrofia muscular o sarcopenia.

Souza Flavia et al., 2012, Food Research International vol 49, 560 -566 describe complejos de micropartículas electrostáticas que comprenden micelas de proteína de suero de leche y pectina como ingredientes principales.  
65

WO2007/073188 describe un sistema de gel comestible que comprende un aislado de proteína de suero de leche, tratado térmicamente en solución acuosa, junto con la pectina como ingredientes principales.

5 Lambers et al., 2013, Food Digestion vol 4, 1-6 describe complejos electrostáticos formados a través de la combinación de proteínas de suero de leche modificadas en combinación con pectina o goma arábica.

US6355612 describe micropartículas de proteína de polisacárido-suero de leche que comprenden proteína de suero de leche y alginato.

10 Existe una necesidad persistente de encontrar mejores soluciones nutricionales para los pacientes que sufren de una pérdida de masa muscular o fuerza muscular. El objetivo de la presente invención es mejorar el estado de la técnica y proporcionar una solución nutricional mejorada para mantener una concentración elevada de aminoácidos plasmáticos en un sujeto. El objeto de la presente invención se logra por el objeto de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan aún más la idea de la presente invención.

15  
20 Cualquier referencia a los documentos del estado de la técnica en esta especificación no debe considerarse una admisión de que dicho estado de la técnica es ampliamente conocido o forma parte del conocimiento general común en el campo. Tal como se utiliza en esta especificación, las palabras "comprende", "comprendiendo", y palabras similares, no deben interpretarse en un sentido exclusivo o exhaustivo. En otras palabras, pretenden significar "que incluye, pero no se limita a".

#### Resumen de la invención

25 En consecuencia, la presente invención proporciona en un primer aspecto una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para su uso en el tratamiento o prevención de una condición seleccionada del grupo formado por sarcopenia, atrofia muscular y balance negativo de nitrógeno, en el que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero nativa desmineralizada a un valor de entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.

30  
35 En un segundo aspecto, la invención se refiere al uso no terapéutico de una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para mantener el peso en sujetos de edad avanzada, donde la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.

40 Otro aspecto de la invención se refiere a una composición alimentaria que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina en la que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición está entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas, en el que el contenido total de micelas de proteína de suero de leche en la composición es de al menos 5% en peso.

45  
50 "Las micelas de proteína de suero de leche" (MPSL) se definen en este documento como se describe en EP1839492A1 y se caracterizan en más detalle en Schmitt C et al. [Soft Matter 6:4876-4884 (2010)], donde se conocen como microgeles de proteína de suero de leche (MPSL). En particular, las "micelas de proteína de suero de leche" son las micelas compuestas en el concentrado de micelas de proteína de suero de leche que se pueden obtener por el proceso según lo descrito en EP1839492A1. En él, el proceso para la producción de concentrado de micelas de proteína de suero de leche comprende los pasos de: a) ajustar el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche a un valor entre 3,0 y 8,0; b) someter la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C; y c) concentrar la dispersión obtenida en el paso b). Por lo tanto, las micelas producidas tienen una distribución de tamaño extremadamente nítida, de modo que más del 80% de las micelas producidas tienen un tamaño menor que 1 micra de diámetro y preferiblemente tienen entre 100 nm y 900 nm de tamaño. Las "micelas de proteína de suero de leche" pueden estar en concentrado líquido o en forma de polvo. Es importante destacar que la estructura de micela básica de las proteínas de suero de leche se conserva, en el concentrado, el polvo y en la forma reconstituida a partir del polvo, por ejemplo en agua. Las "micelas de proteína de suero de leche" son físicamente estables en dispersión, tanto en polvo como durante el secado por pulverización o el secado por congelación.

55  
60  
65 Se requiere un rápido aumento de los aminoácidos plasmáticos para estimular la síntesis de proteínas musculares en reposo y después del ejercicio [Dangin M et al., 2003, J Physiol 549:635-644]. Este aumento de los aminoácidos plasmáticos puede proporcionarse, por ejemplo, mediante aislado de proteína de suero de leche (APSL) [Tang JE et al., 2009, J Appl Physiol 107:987-992]. Una respuesta de aminoácidos más sostenida puede prolongar el anabolismo y aumentar la síntesis de proteínas musculares proporcionando bloques de construcción de aminoácidos durante un

período de tiempo más largo [Lacroix M et al., 2006: Am J Clin Nutr 84:107-9]. Además, una proteína digerida más lentamente puede suprimir la descomposición de proteínas [Dangin M et al., 2001, Am J Physiol 280:E340-E348], que tendría un beneficio adicional para el equilibrio neto de proteínas musculares, es decir, la diferencia entre la síntesis de proteínas y la descomposición de proteínas. Por lo tanto, una proteína o una mezcla de proteínas que induciría la aminoacidemia máxima pero durante un período de tiempo más largo haría ambas cosas, es decir, estimular al máximo la síntesis de proteínas y suprimir la descomposición de proteínas.

La estimulación de la tasa de síntesis de proteínas musculares, la construcción de la proteína muscular y el balance positivo de nitrógeno están vinculados a una mayor concentración de aminoácidos asociados con una comida o un suplemento dietético. Este proceso anabólico está por lo tanto directamente relacionado con el aumento de la concentración de aminoácidos y se reconoce que en estado de enfermedad o en sujetos de edad avanzada, una resistencia anabólica a esta estimulación está presente lo que significa que el aumento de los aminoácidos plasmáticos debe ser mayor que en sujetos jóvenes para obtener la misma estimulación. Por lo tanto, cuanto mayor sea el pico de aminoácidos y más largo será, mayor será también la estimulación de la síntesis de proteínas musculares.

Los inventores han hallado sorprendentemente que el consumo de una composición que comprende complejos de micelas de proteína de suero de leche (MPSL) y pectina por minicerdos induce una absorción de aminoácidos más sostenida que el consumo de una composición de control isocalórica e iso-nitrógeno con sólo micelas de proteína de suero de leche. Los resultados del estudio preclínico se presentan en la sección Ejemplos.

Por lo tanto, los inventores han encontrado una composición que induce una aminoacidemia máxima alta sostenida en un sujeto. Esta hiper-aminoacidemia durante un período prolongado postprandial de tiempo es más favorable para estimular al máximo la síntesis de proteínas musculares, reducir la descomposición de la proteína y por lo tanto mantener o incluso mejorar la masa muscular.

Un exceso de aminoácidos en el torrente sanguíneo (hiper-aminoacidemia) puede conducir a un aumento en la síntesis de proteínas y la reducción de la descomposición de proteínas con un balance de nitrógeno positivo general. Este balance positivo de nitrógeno refleja más construcción de tejido magro que la destrucción, lo que conduce en general a un aumento en la masa corporal magra.

Aunque no desean estar vinculados a la teoría, los inventores piensan que las micelas de proteína de suero de leche asociadas con pectina inducen un vaciado gástrico retrasado o se digieren más lentamente que las micelas de proteína de suero de leche solas. De este modo, los complejos de micelas de proteína de suero de leche y la pectina suministran los aminoácidos más lentamente a la circulación sanguínea periférica.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: Variación de la carga de la superficie (potencial  $\xi$ ) en función del pH para MPSL y la pectina en soluciones de concentración 0,1 % en peso y a T 25 °C.

Figura 2: Distribución del tamaño de las partículas en sistemas MPSL/pectina (a pH = 4) de concentración proteica del 1 % en peso y diferentes concentraciones de pectina (proporciones de peso MPSL:pectina entre 1:1 y 10:1). Los resultados se presentan como intensidad de luz dispersa frente al diámetro de las partículas en volumen.

Figura 3: Distribución del tamaño de las partículas en sistemas MPSL/pectina (a pH = 4) de concentración proteica del 1 % en peso y diferentes concentraciones de pectina (proporciones de peso MPSL:pectina entre 1:1 y 10:1). Los resultados se presentan como porcentaje del volumen total frente al diámetro de las partículas.

Figura 4: Concentración de leucina en plasma ( $\mu$ M) frente a tiempo tras la comida para los complejos MPSL (A) y MPSL/pectina (B).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para su uso en el tratamiento o prevención de una condición vinculada a una reducción de la masa muscular o a una tasa de síntesis muscular reducida. En particular, la invención proporciona una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina, para su uso en el tratamiento o prevención de una condición seleccionada del grupo que consiste en sarcopenia y atrofia muscular, en la que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, por ejemplo entre 10:1 y 1:1. Las micelas de proteína de suero de leche en la composición de la invención se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.

La invención puede referirse al uso de dicha composición que comprende complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de una condición

seleccionada del grupo que consiste en sarcopenia y atrofia muscular.

A medida que la relación de MPSSL respecto a pectina aumenta por encima de 30:1, el efecto beneficioso de los complejos se vuelve indistinguible solo para MPSSL. Por ejemplo, un mínimo del 0,1 % de la composición global puede ser pectina sobre una base de peso seco, para otro ejemplo, un mínimo del 2 % de la composición global puede ser pectina sobre una base de peso seco. La pectina puede ser pectina metilestenificada alta. Para las proporciones de MPSSL a pectina por debajo de 0.8:1, las composiciones no pueden proporcionar suficiente proteína para afectar a los aminoácidos plasmáticos sin llegar a ser inaceptablemente viscosos. La relación peso de las micelas de proteína de suero de leche a la pectina en los complejos comprendidos en la composición de la invención es de entre 30:1 y 0,8:1, por ejemplo entre 10:1 y 1:1. La hiperaminoacidemia durante un período de tiempo postprandial sostenido proporcionado por el uso inventivo de los complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina es más favorable para estimular al máximo la síntesis de proteínas musculares y por lo tanto mantener o incluso mejorar la masa muscular.

Se describen más adelante las composiciones que comprenden complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina pueden, por ejemplo, formarse combinando una dispersión acuosa de pectina con una dispersión acuosa de micelas de proteína de suero de leche a un pH de entre 2,5 y 4,5. El pH de las dispersiones puede ser tal que el pH final esté en este rango directamente, o el pH puede ajustarse para estar dentro de este rango después de combinar las dispersiones. Los complejos se pueden utilizar en forma de dispersión acuosa, o pueden secarse, por ejemplo para ser utilizados como polvo.

La sarcopenia y la atrofia muscular son componentes de la fragilidad física, un síndrome geriátrico común. La presente invención está adaptada para proporcionar una solución nutricional a los pacientes que sufren de estas condiciones, para reducir o detener la pérdida de masa muscular y/o en última instancia para construir de nuevo músculo masa y fuerza.

La composición de la invención puede ser para su uso en el tratamiento o prevención de la sarcopenia. "Sarcopenia" se define como la pérdida degenerativa de la masa muscular y la función (incluyendo la fuerza) asociada al envejecimiento. La sarcopenia se caracteriza primero por una disminución en el tamaño del músculo, que causa debilidad y fragilidad. Sin embargo, esta pérdida de masa muscular puede ser causada por diferentes mecanismos celulares que aquellos que causan la atrofia muscular debido a una enfermedad específica. Por ejemplo, durante la sarcopenia, hay un reemplazo de las fibras musculares con grasa y un aumento de la fibrosis.

La composición de la invención puede ser para su uso en el tratamiento o prevención de la atrofia muscular. "Atrofia muscular" se define como una disminución en la masa de los músculos en un sujeto. Puede ser un desgaste parcial o completo del tejido muscular. Cuando un músculo se atrofia, esto conduce a la debilidad muscular, ya que la capacidad de ejercer la fuerza está relacionada con la masa muscular. La atrofia muscular es el resultado de una comorbilidad de varias enfermedades comunes, como el cáncer, el SIDA, la insuficiencia cardíaca congestiva y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Además, el hambre eventualmente conduce a la atrofia muscular. El desuso de los músculos también conducirá a la atrofia.

La composición para su uso de acuerdo con la invención puede administrarse a un paciente en estado crítico, a un paciente después de la cirugía, a un paciente de trauma, a un paciente con cáncer o a un paciente durante y después del reposo en cama. El destino común de todos estos pacientes es que están perdiendo dramáticamente masa muscular y/o están en riesgo de perder dramáticamente (aún más) masa muscular. Por lo tanto, son aquellos pacientes los que se beneficiarían al máximo de la nueva invención actual.

Un "paciente en estado crítico" se define como un paciente que está en alto riesgo de sufrir un problema de salud real o potencial que pone en riesgo la vida. Cuanto más gravemente enfermo esté el paciente, más probable es que sea altamente vulnerable, inestable y complejo, lo que requiere cuidados de enfermería intensivos.

Un "paciente de trauma" es una persona que ha sufrido un trauma. Por lo tanto, el trauma se refiere a una herida corporal o shock producido por lesiones físicas repentinas, como por ejemplo por violencia o un accidente. Las personas que han sufrido trauma por lo general requieren atención especializada.

Un "paciente con cáncer" es un paciente que tiene cáncer.

La atrofia por desuso puede ocurrir en pacientes que no hacen ejercicio físico, como pacientes durante y después del reposo en cama. La atrofia muscular es causada por el paciente que no usa sus músculos lo suficiente.

La composición para su uso de acuerdo con la invención puede administrarse en combinación con una comida. La mayoría de las comidas comprenden proteínas de una leche, planta y/o origen animal y, por lo tanto, en el consumo conducen a un aumento de la aminoacidemia postprandial, es decir, una concentración elevada de aminoácidos en el plasma del consumidor. Es una ventaja combinar la administración de los complejos MPSSL/pectina con una comida de este tipo. De este modo, los niveles de aminoácidos plasmáticos postprandiales resultantes de las proteínas presentes en la comida se combinan con los niveles sostenidos de aminoácidos posprandiales resultantes de los

complejos MPSSL/pectina. De este modo, la hiperaminoacidemia resultante general se extiende y se prolonga en el tiempo. Esto a cambio es más favorable para estimular al máximo la síntesis de proteínas musculares, reducir la descomposición de la proteína muscular y por lo tanto mantener o incluso mejorar la masa muscular.

5 La comida puede comprender aislados de proteína de suero de leche, proteínas de leche nativas o hidrolizadas, aminoácidos libres o una combinación de los mismos. Como se sabe en estudios anteriores, una comida de proteína de suero de leche exhibe un efecto de aminoacidemia significativamente más fuerte en sujetos que, por ejemplo, una comida de proteína vegetal. Por lo tanto, ventajosamente, los complejos MPSSL/pectina se combinan con una comida que comprende proteínas de suero de leche en forma de APSL o leche. Ventajosamente, la comida se puede  
10 complementar aún más con aminoácidos libres en combinación con el suero de leche o proteínas de la leche para inducir de manera óptima una hiperaminoacidemia al consumo de dicha comida.

La composición para su uso de acuerdo con la invención puede administrarse a un paciente durante el período de al menos un día antes de la cirugía y/o estancia hospitalaria a por lo menos una semana después de la cirugía y/o  
15 estancia hospitalaria. De este modo, ventajosamente, un paciente acumula su reserva de aminoácidos plasmáticos ya antes de someterse a una cirugía o una estancia hospitalaria más larga y continúa manteniendo una concentración tan elevada de los aminoácidos esenciales durante todo el período de recuperación. Esto le proporciona un estado nutricional óptimo para minimizar la pérdida de masa muscular durante la intervención hospitalaria y también lo prepara para una recuperación más rápida y la acumulación de tejidos musculares perdidos a partir de entonces.

La composición puede administrarse en una dosis diaria para proporcionar entre 0,1 g y 2,0 g de peso seco de micelas de proteína de suero de leche por 1 kg de peso corporal, por ejemplo, entre 0,2 g y 1,5 g de peso seco de las micelas de proteína de suero de leche por 1 kg de peso corporal. La composición se puede administrar en una dosis diaria para proporcionar entre 0,1 g y 3,5 g de peso seco de los complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina  
20 por 1 kg de peso corporal, por ejemplo, entre 0,2 g y 2,5 g de peso seco de los complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina por 1 kg de peso corporal. Esas dosis deben garantizar una cantidad diaria suficiente para proporcionar el efecto deseado a un sujeto en al menos un período a medio plazo.

La composición puede ser en cualquier forma conveniente, por ejemplo la composición puede ser en forma de una  
30 bebida, composición nutricional, barra, escamas o como pellets. La composición puede ser un apoyo nutricional oral.

La composición puede ser tratada térmicamente. Un método importante para controlar los riesgos de higiene de los alimentos es el de tratar térmicamente las composiciones comestibles que pueden albergar patógenos alimentarios o organismos de deterioro. Ejemplos bien conocidos de estos tratamientos térmicos son la pasteurización, por ejemplo,  
35 calentar un material comestible a 72 °C durante 15 segundos, y el tratamiento de temperatura ultra alta (UHT), por ejemplo, calentar un material comestible por encima de 135 °C durante al menos 2 segundos. El tratamiento térmico puede ser crítico cuando la composición debe administrarse a un sujeto con una inmunidad debilitada a la infección, como una persona mayor o un paciente en el hospital.

La composición puede ser un líquido tratado térmicamente. Generalmente, el contenido de proteínas que se puede incluir en las composiciones líquidas esterilizadas térmicamente es muy limitado. Las composiciones con alto contenido de proteína forman geles gruesos al calentarse y por lo tanto no proporcionan un formato líquido conveniente una vez tratado térmicamente. Por ejemplo, una dispersión de proteína de suero de leche nativa forma un gel en presencia de 0,1 M de cloruro sódico a una concentración proteica de sólo 4 % en peso después de un tratamiento térmico de 85 °C durante 15 min. Se espera que la adición de pectina empeore el problema del gelificante. Por ejemplo,  
40 se ha encontrado la adición de pectina a la proteína de suero de leche para disminuir la concentración de gelificante de proteínas o el tiempo de gel tras el tratamiento térmico [S.L. Turgeon et al., Food Hydrocolloids, 15, 583-591 (2001)]. La sorprendente constatación de que las composiciones líquidas que comprenden los complejos MPSSL/pectina pueden ser tratadas térmicamente y, por lo tanto, siguen siendo líquidas permite proporcionar una composición líquida ventajosa. La composición líquida tratada térmicamente para su uso de acuerdo con la invención puede tener un contenido total de micelas de proteína de suero de leche de al menos 5 % en peso, por ejemplo al menos 10 % en peso.

La composición líquida para su uso de acuerdo con la invención puede ser un sustituto de comida líquida. Las micelas de proteína de suero de leche tienen un aspecto más "lechoso" en comparación con los aislados de proteína de suero de leche. Esto puede mejorar la apariencia de bebidas líquidas o sustitutos de comidas. El sustituto de la comida líquida puede estar en una forma adecuada para la alimentación por sonda enteral. Por lo tanto, ventajosamente, tal reemplazo de comida puede ser utilizado, por ejemplo, en unidades de cuidados intensivos u hospitales, donde los pacientes debido, por ejemplo, a su trauma requieren una dieta alta en proteínas para la recuperación. Por lo tanto,  
55 un sustituto de comida líquida es muy conveniente y proporciona las cantidades necesarias de proteínas en una formulación bien adaptada. La alimentación por sonda enteral es una manera de proporcionar alimentos o nutrición a través de una sonda colocada en la nariz, el estómago o el intestino delgado. La alimentación por sonda enteral a menudo también se denomina nutrición enteral. La composición líquida puede comprender además lípidos y carbohidratos para proporcionar una nutrición adecuada. La composición líquida permite que una gran cantidad de proteína se entregue en un volumen relativamente pequeño sin mal sabor ni textura. Esto confiere una ventaja significativa y originalidad para la producción de sustitutos de comidas líquidas y sistemas de reemplazo de comidas.

Permite proporcionar productos de reemplazo de comida sin líquido con altas cantidades de proteínas de suero de leche.

5 El contenido total de micelas de proteína de suero de leche en la composición para su uso de acuerdo con la invención puede ser de al menos 5 % en peso, por ejemplo, al menos 10 % en peso en un seco. El contenido total de complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina en la composición para su uso según la invención puede ser de al menos 5 % en peso, por ejemplo al menos 10 % en peso

10 Como se mencionó anteriormente, es de una ventaja combinar la administración de complejos MPSSL/pectina con proteínas de suero de leche en forma de APSL, leche y/o incluso aminoácidos libres para inducir y extender de manera óptima una hiperaminoacidemia al consumir dicha comida. Preferiblemente, los diferentes componentes proteicos se combinan en un producto de reemplazo de comida o kit de productos. De este modo, los componentes proteicos individuales se pueden dosificar de forma óptima para proporcionar un mejor y prolongado efecto hiper-aminoacidemia y al mismo tiempo optimizado para una buena aplicación del producto, organolépticamente mejor aceptable.

15 Otro aspecto de la presente invención es el uso no terapéutico de una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para mantener el peso, aumentar la masa muscular o aumentar la fuerza muscular en la que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, por ejemplo entre 10:1 y 1:1. Las micelas de proteína de suero de leche en la composición utilizada según la invención se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.

20 Los individuos sanos pueden desear mantener un peso corporal constante, por ejemplo sujetos ancianos sanos (como seres humanos y animales) que tienen un apetito inferior que cuando eran más jóvenes y para quienes sería beneficioso asegurar la síntesis adecuada de proteínas musculares. Las personas que se preparan o terminan un período de ayuno, por ejemplo por razones de ayuno religioso, pueden beneficiarse del consumo de una composición que proporciona un nivel sostenido de aminoácidos en la sangre y ayuda a mantener el estado nutricional óptimo y el peso corporal. Dicha composición es proporcionada por la composición de acuerdo con el uso no terapéutico de la invención, que proporciona a los atletas y culturistas que desean consumir una composición para aumentar su masa muscular o aumentar su fuerza muscular.

25 Un sujeto es considerado como "anciano" si han superado los dos primeros tercios de su vida útil media esperada en su país de origen, preferiblemente si han superado los tres primeros cuartos de la vida media esperada en su país de origen, más preferiblemente si han superado las primeras cuatro quintas partes de la vida media esperada en su país de origen. Por ejemplo, una persona nacida en el Reino Unido en 2010 tiene una esperanza de vida al nacer de 78 años según la Oficina de Estadísticas Nacionales del Reino Unido, por lo tanto, sería considerado de edad avanzada a edades mayores de 52 años, preferiblemente más de 58 años 6 meses y más preferiblemente más de 62 años 5 meses. Para las mascotas y el ganado, se debe tener en cuenta la especie y la raza. Por ejemplo, un perro Yorkshire Terrier tiene una esperanza de vida de unos 12 años [E.J. Taylor et al., Proceedings of the Nutrition Society, 54, 645-656 (1995)] y por lo tanto sería considerado anciano a edades mayores de 8 años, preferiblemente más de 9 años y más preferiblemente más de 9 años 7 meses.

30 Es una ventaja de la presente invención que una composición que comprende complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina también se puede administrar a sujetos de edad avanzada, por ejemplo sujetos ancianos sanos, que pueden estar en riesgo de perder peso, especialmente la masa muscular en algún momento posterior. Los complejos de MPSSL/pectina que se describen en el presente documento pueden proporcionar a sujetos ancianos sanos con proteínas de alta calidad y niveles sostenidos de aminoácidos plasmáticos, por lo que pueden mejorar el estado de salud general de esos sujetos.

35 En otro aspecto, la invención proporciona una composición alimentaria, por ejemplo, para administrarse a un sujeto de edad avanzada, que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina en la que la proporción de peso de las micelas de proteína de suero de leche a la pectina en la composición es de entre 30:1 y 0,8:1, por ejemplo entre 10:1 y 1:1. Las micelas de proteína de suero de leche en la composición alimentaria de la invención se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.

40 El contenido total de micelas de proteína de suero de leche en la composición alimentaria de la invención es de al menos 5 % en peso, por ejemplo, al menos 10 % en peso. La composición alimentaria de la invención puede comprender 5-20 % en peso de proteínas, 1-15 % en peso de lípidos, 25-50 % en peso de carbohidratos y 0,1-10 % en peso de fibras del peso seco total.

45 La composición alimentaria de la invención puede ser un producto lácteo fermentado como un yogur, por ejemplo, un yogur con cuchara, un yogur para beber o un yogur denso. En el contexto de la presente invención, el término yogur puede incluir, entre otros, materiales que cumplan con las normas locales de etiquetado de alimentos relativas al

término "yogur". Los yogures son un formato de producto conveniente para proporcionar una fuente de proteína, teniendo una buena aceptación del consumidor. Los complejos MPSSL/pectina aumentan la viscosidad cuando se añaden a un producto líquido, lo que generalmente es deseable en el yogur. La composición alimentaria de la invención puede ser un reemplazo de comida o un suplemento nutricional oral. La composición alimentaria de la invención puede ser un alimento para mascotas. Las mascotas como los perros pueden mostrar pérdida muscular a medida que envejecen y por lo que es beneficioso ser capaz de proporcionar una composición alimentaria para las mascotas que puede ayudar a prevenir la pérdida de masa muscular.

En particular, las características descritas para la composición para uso terapéutico pueden utilizarse y combinarse con las características del uso no terapéutico y/o la composición alimentaria, y viceversa. Además, pueden combinarse las características descritas para diferentes realizaciones de la presente invención. Otras ventajas y características de la presente invención se desprenden de las figuras y ejemplos.

## Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de complejos micelas de proteína de suero de leche de pectina

El polvo de micela de proteína de suero de leche (MPSSL) se produjo mediante tratamiento térmico a 85 °C/15 min de una dispersión de aislado de proteína de suero de leche (Prolacta 90) a un 4 % de proteína en peso a pH 5,89, luego se concentró por microfiltración hasta un 22 % en peso en seco del total de sólidos y pulverización.

Se preparó una solución de reserva de pectina (pectina metilesterificada alta, CU201 clásica, Herbstreith & Fox KG) al 5 % en peso en agua desionizada agitando durante 2-3 horas a 60 °C. Para permitir una hidratación completa de las cadenas, la solución se agitó durante la noche a 4 °C. Se preparó una solución de reserva de MPSSL de 15 % en peso y pH 3,5. En primer lugar, el polvo se dispersó en una solución de HCl de 135 mM, durante la noche a 4 °C. La dispersión se homogeneizó entonces a 250 bares, 2 pases y en 50 bares, 1 pase. La materia seca final y la posterior concentración de proteínas se verificaron utilizando un analizador de humedad halógeno HR73 (Mettler Toledo) y el tamaño de partícula se comprobó mediante dispersión de luz dinámica (Zetasizer Nanoseries, Malvern, Reino Unido). Los valores típicos fueron: diámetro hidrodinámico  $D_h$  a 300 nm, índice de polidispersidad  $pdl$ -0,15. Mezclas de diferentes concentraciones de proteínas (rango 0,1 - 10 % en peso) y las relaciones de peso MPSSL/pectina (rango 1:1 - 10:1) se obtuvieron mezclando las dos soluciones (y añadiendo agua si es necesario). La mezcla se homogeneizó a 500 bares para 2 pases a 25 °C. El pH final del sistema se ajustó al pH 4,0 usando 1M NaOH.

Caracterización fisicoquímica de los sistemas:

- Carga superficial

La carga superficial correspondiente a la movilidad electroforética, el potencial  $\xi$  de las partículas se midió con un instrumento de distribución de movilidad de partículas (Zetasizer Nanoseries, Malvern, Reino Unido). Se utilizó una unidad de titulación multipropósito (MPT 2, Malvern) con soluciones de valoración de HCl 1M y NaOH para variar el pH de 8 a 2 con un incremento de 0,5 y un objetivo de precisión de pH de 0,3. Se utilizó una célula DTS1060C y las mediciones se realizaron a 25 °C. Se empleó una solución de 15 ml de 0,1 % en peso. El procesamiento de datos se realizó automáticamente.

- Distribución del tamaño de las partículas

La distribución del tamaño de las partículas se midió utilizando dispersión de luz estática multiángulo con un banco largo Mastersizer S (Malvern, Reino Unido). En el cálculo se utilizaron índices de refracción de 1,36 para la fase de dispersión y 1,33 para la fase continua y un índice de retrodispersión de 0,1 (presentación 3JHD). Los valores residuales siempre fueron inferiores a 1,5. Teniendo en cuenta la elección arbitraria del índice de refracción de la fase de dispersión y el modelo matemático utilizado (que supone que las partículas son esféricas), las mediciones actuales sólo proporcionan una indicación cualitativa de la agregación en los sistemas en lugar de una determinación cuantitativa de los tamaños de partículas.

## Resultados

I. Identificación de condiciones de pH que permitan la formación de complejos electrostáticos MPSSL/pectina

La carga superficial (potencial  $\xi$ ) de MPSSL y pectina en función del pH se ilustra en la Figura 1. A medida que el pH aumentó de 2 a 8, el potencial  $\xi$  de la pectina disminuyó de neutro a -45 mV. Esta variación se puede relacionar con los grupos de carboxilo en la estructura principal de la pectina. A un pH bajo, la neutralización de estos grupos indujeron valores  $\xi$  potenciales cercanos a cero. Para MPSSL, el potencial  $\xi$  varió de 20 mV a pH 2 hasta 40 mV a pH 3,8 y disminuyó a -45 mV a pH 8 con electroneutralidad medida a pH 4,6. Este último puede estar relacionado con el punto isoeléctrico de la lactoglobulina  $\beta$ , la principal proteína constitutiva del MPSSL.

Estos resultados mostraron que en el rango de pH 2,5-4,5 los dos componentes llevaban cargas opuestas y, por lo tanto, son susceptibles a formar complejos electrostáticos.

II. Distribución del tamaño de las partículas

5 Para evaluar las variaciones inducidas por la incorporación de pectina a MPSL, se midió la distribución del tamaño de partícula y las figuras 2 y 3 presentan los resultados obtenidos para sistemas que contienen 1 % en peso de MPSL y cantidades crecientes de pectina, de 0,1 % a 1 %, correspondientes a relaciones de peso MPSL:pectin de 10:1 a 1:1.

10 A baja concentración de pectina (0,1 % en peso), el diámetro medio de las partículas fue superior a 10 µm y menos del 10 % del volumen total de la muestra estaba representado por partículas con diámetros inferiores a 1 µm. A medida que la concentración de pectina aumentó hasta un 1% en peso, el diámetro medio disminuyó por debajo de 1 µm y más del 80 % del volumen total estaba representado por partículas con diámetros inferiores a 1 µm. A una concentración de pectina del 1 % en peso, el tamaño medio de las partículas fue comparable al MPSL solo. Para las altas relaciones MPSL:pectina (es decir, bajas concentraciones de pectina), es probable que se produzcan interacciones entre MPSL y pectina debido al efecto de carga y se formen principalmente grandes agregados. A medida que aumenta la concentración de pectina, se forman complejos comparables en tamaño con MPSL probablemente debido a la compactación de las cadenas de pectina en la superficie del MPSL.

20 Los resultados muestran que una dispersión acuosa de micelas de proteína de pectina y suero de leche formará complejos de micelas proteicas de suero de leche y pectina en condiciones de pH entre 2,5 y 4,5.

Ejemplo 2: Influencia de complejos de micelas de proteína de suero de leche y pectina en la apariencia de los aminoácidos

25 Los inventores supervisaron la respuesta postprandial de la concentración de aminoácidos plasmáticos en un estudio cruzado aleatorizado doble ciego en minicerdos sanos. Se mantuvo un período de lavado de al menos 6 días entre dos comidas y durante este tiempo, los minicerdos recibieron una dieta regular.

30 Se compararon los siguientes sustitutos de comidas isocalóricas e isonitrogenosas.

A	micelas de proteína de suero de leche (MPSL) + lípidos + maltodextrina
B	complejos MPSL/pectina + lípidos + maltodextrina

35 Ambas comidas fueron de aproximadamente 300 ml y contenían 30 g de proteína de suero de leche, 11 g de lípidos y 30 g de maltodextrina. La comida B también contenía 1,5 g de pectina (pectina metilesterificada alta, CU201 clásico, Herbstreith & Fox KG). El valor calorífico y el contenido de proteínas se midieron analíticamente y el tamaño de cada comida de prueba se ajustaba ligeramente para asegurarse de que todas eran isocalóricas e isonitrogenosas. La comida A estaba en pH neutro y la comida B estaba en pH ácido.

40 Comida A: El polvo de MPSL fue producido por tratamiento de calor de una dispersión de proteína de 4 % en peso (pH 5,89) de APSL (Prolacta 90) a 85 °C durante 15 minutos, luego la concentración por microfiltración hasta 22 % en peso de sólidos y secado por pulverización. Se homogeneizó una solución del 15 % t.s. (pH 7) de MPSL y se mezcló con una emulsión homogeneizada de 40 % de aceite en agua estabilizada por un emulsionante Citrem al 4 %. Se añadió maltodextrina (DE 21) y la mezcla se sometió a un tratamiento UHT a 148 °C durante 3 segundos antes de llenarla en botellas estériles.

45 Comida B: El polvo de MPSL se produjo de la misma manera que para la comida A. Se homogeneizó una solución del 15 % t.s. (pH 4) de MPSL y se mezcló con pectina y maltodextrina a 60 °C durante 1 hora para formar complejos de MPSL/pectina. La mezcla se homogeneizó a 250 bar y se mezcló con una emulsión homogeneizada de 40 % de aceite en agua estabilizada por un emulsionante Citrem al 4 %. El pH se comprobó/ajustó para que fuera pH 4. La mezcla se sometió a un tratamiento UHT a 148 °C durante 3 segundos antes de llenarla en botellas estériles.

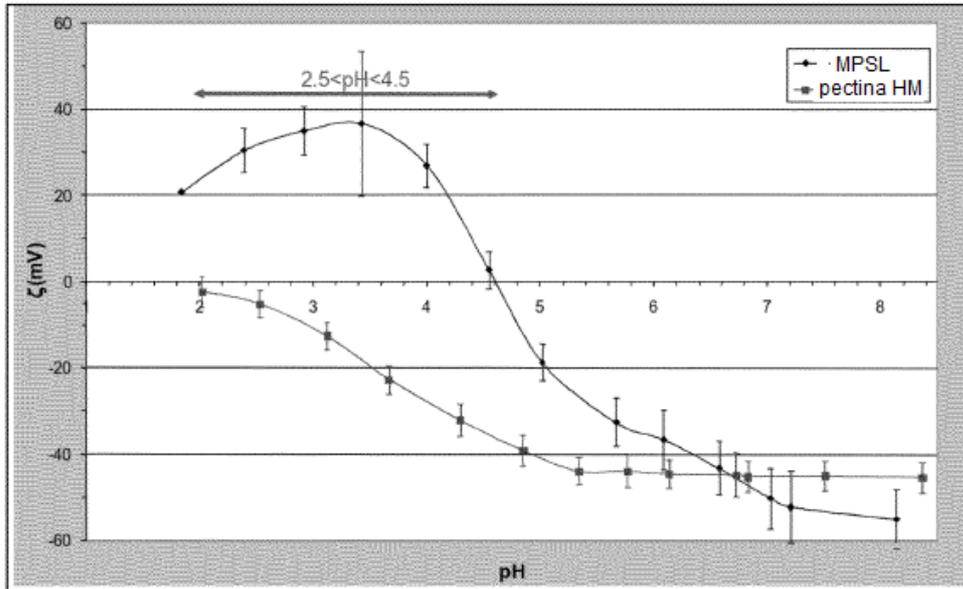
50 Se tomaron muestras de sangre en 11 puntos de tiempo desde 30 minutos antes de la comida hasta 270 minutos después, y se determinó la concentración plasmática de leucina. Los resultados se representan en la Figura 4. Las áreas bajo las dos curvas son esencialmente las mismas, lo que muestra que la leucina total entregada era la misma. Sin embargo, se puede ver que mientras que la concentración de leucina comienza a decaer entre 210 y 270 minutos para la muestra A (MPSL), la concentración de leucina sigue siendo mayor para la muestra B (MPSL/pectina) demostrando una absorción de aminoácidos más sostenida. Este estudio mostró la ventaja de las composiciones que comprenden los complejos MPSL/pectina para mantener una concentración elevada de aminoácidos plasmáticos en un sujeto.

60

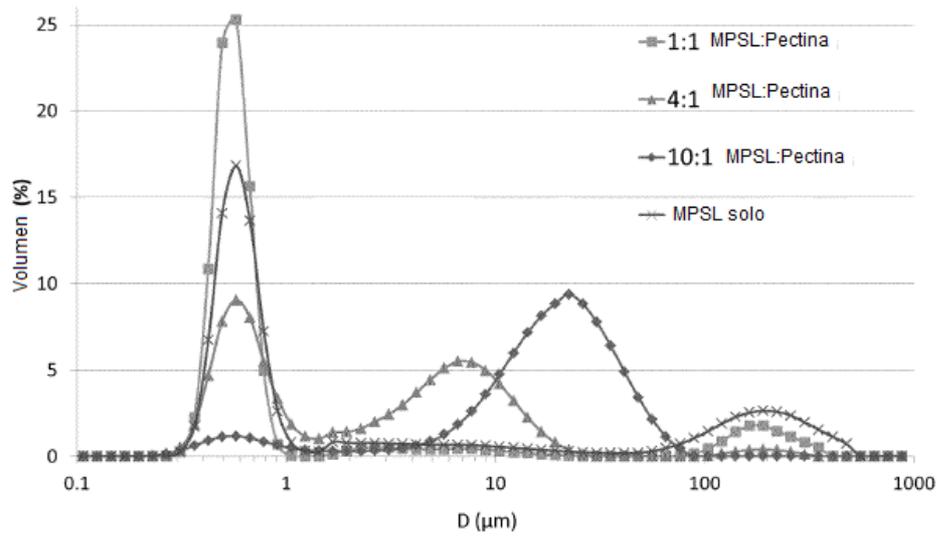
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para su uso en el tratamiento o prevención de una condición seleccionada del grupo consistente en sarcopenia y atrofia muscular, donde la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.
- 10 2. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en la que la composición se administra a un paciente gravemente enfermo, un paciente después de la cirugía, un paciente de trauma, un paciente con cáncer o un paciente durante y después del reposo en cama.
- 15 3. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que la composición se administra en combinación con una comida.
- 20 4. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 que se administrará a un paciente durante el período de al menos un día antes de la cirugía y/o estancia hospitalaria a por lo menos una semana después de la cirugía y/o estancia hospitalaria.
- 25 5. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en la que la composición se administra en una dosis diaria para proporcionar entre 0,1 g y 2,0 g de peso seco de micelas de proteína de suero de leche por 1 kg de peso corporal.
- 30 6. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en la que la composición es un líquido tratado térmicamente.
- 35 7. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en la que la composición es un sustituto de comida líquida.
- 40 8. Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 7 en la que el sustituto de la comida líquida está en una forma adecuada para la alimentación por sonda enteral.
- 45 9. Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 en la que el contenido total de micelas de proteína de suero de leche en la composición es de al menos 5 % en peso.
- 50 10. El uso no terapéutico de una composición que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina para mantener el peso, aumentar la masa muscular o aumentar la fuerza muscular en la que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un periodo de tiempo entre 10 segundos y 2 horas.
- 55 11. La composición alimentaria que comprende complejos electrostáticos de micelas de proteína de suero de leche y pectina en la que la relación de peso de las micelas de proteína de suero de leche respecto a la pectina en la composición es de entre 30:1 y 0,8:1, y las micelas de proteína de suero de leche se pueden obtener ajustando el pH de una solución acuosa de proteína de suero de leche nativa desmineralizada a un valor entre 5,8 y 6,6 y sometiendo la solución acuosa a una temperatura entre 80 y 98 °C durante un período de tiempo entre 10 segundos y 2 horas, en el que el contenido total de micelas de proteína de suero de leche en la composición es de al menos 5 % en peso.
- 60 12. Una composición alimentaria de acuerdo con la reivindicación 11 en la que la composición alimentaria comprende 5-20 % en peso de proteínas, 1-15 % en peso de lípidos, 25-50 % en peso de carbohidratos y 0,1-10 % en peso de fibras del peso total en seco.
13. Una composición alimentaria de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 o 12 en la que la composición alimentaria es un yogur, un sustituto de comida o un suplemento nutricional oral.
14. Una composición alimentaria de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11 o 12 en la que la composición alimentaria es un alimento para mascotas.

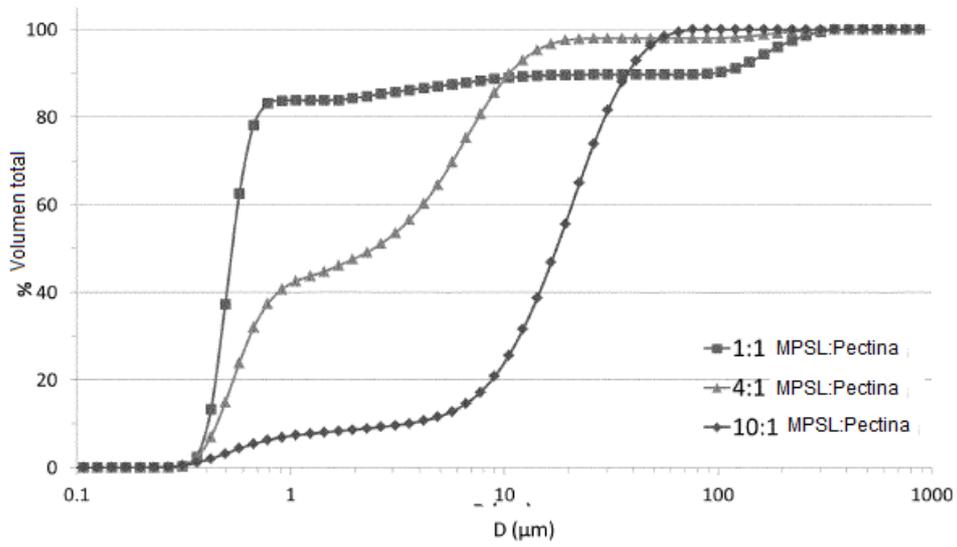
**Fig. 1**



**Fig 2**



**Fig 3**



**Fig 4**

