(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 775 610**

(51) Int. CI.:

A23L 33/10 (2006.01)
A23L 33/155 (2006.01)
A23L 33/175 (2006.01)
A23L 33/19 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2016 PCT/EP2016/064636**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **29.12.2016 WO16207329**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2016 E 16734598 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2019 EP 3313207**

(54) Título: **Composiciones y métodos para el tratamiento de malnutrición**

(30) Prioridad:

26.06.2015 NL 2015032

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.07.2020

(73) Titular/es:

VITALNEXT B.V. (100.0%)
Hogeweg 228
3815 LZ Amersfoort, NL

(72) Inventor/es:

ZONDAG, GERBEN CAROLUS MARTINUS y
STRIJKER, REINDER

(74) Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

Observaciones:

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

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones y métodos para el tratamiento de malnutrición

Campo técnico

La invención se refiere al campo de medicina y nutrición. Más en particular, la invención se refiere a medios y métodos para el tratamiento de la malnutrición que puede ser el resultado de una enfermedad. La invención se refiere además a composiciones nutritivas para administración enteral y complementos y combinaciones particulares de compuestos en dichas composiciones nutritivas y complementos, para tratar a pacientes que padecen malnutrición y complicaciones relacionadas con la misma, tal como pérdida de peso corporal y atrofia muscular.

Antecedentes

La malnutrición es un estado de nutrición en que una deficiencia, exceso o desequilibrio de energía, proteínas y otros nutrientes causa efectos adversos medibles sobre la forma tisular/corporal (forma, tamaño y composición corporal), función y resultado clínico (Stratton RJ et al., 2003. Disease-related malnutrition: an evidence based approach to treatment. Wallingford: CABI Publishing). Con una población en envejecimiento en todo el mundo, la malnutrición relacionada con enfermedad es un fenómeno creciente y una preocupación de la salud pública creciente. Solamente en Europa, aproximadamente 33 millones de pacientes padecen malnutrición relacionada con enfermedad o con la edad (Ljungqvist O et al., 2010. The European fight against malnutrition. Clin. Nutr 29:149-150). La malnutrición afecta a todos los grupos de edad, pero las personas mayores están particularmente en riesgo: el riesgo de malnutrición es un 40 % mayor en personas con edad por encima de 65 que en personas con edad por debajo de 65. Se ha determinado que las personas hospitalizadas están particularmente en riesgo: uno de cada cuatro pacientes admitidos en hospitales está en riesgo de malnutrición o ya está desnutrido, y hasta un 90 % de los residentes en cuidados a largo plazo están en riesgo. La malnutrición también es común entre una diversidad de grupos de pacientes y es particularmente predominante en personas con cáncer o SIDA. La malnutrición está causada principalmente por una escasa ingesta y/o captación de alimentos y nutrientes; los efectos de la enfermedad y el tratamiento pueden contribuir además al desarrollo de malnutrición. Los pacientes hospitalizados a menudo no logran cumplir sus necesidades diarias de energía, proteínas y micronutrientes. A través de esto, aumentan las tasas de complicación, morbilidad, mortalidad, readmisión hospitalaria y duración de estancia hospitalaria. La malnutrición relacionada con enfermedad afecta de forma adversa a cada sistema orgánico en el cuerpo con consecuencias potencialmente graves a nivel físico psicosocial que contribuye a una morbilidad y mortalidad aumentadas (Elia M y Russell C. 2009. Combating malnutrition: recommendations for action. Report from the Group on Malnutrition. Led by British Association of Parenteral and Enteral Nutrition, BAPEN, Redditch). Obviamente, el aumento en casos de malnutrición provoca mayores costes de tratamiento y costes asociados a la sociedad. A pesar de los problemas aparentes relacionados con la malnutrición, y que los costes directos e indirectos relacionados con la malnutrición son importantes, a menudo siguen siendo ignorados, indetectados e intratados. Por tanto, hay una necesidad constante de controlar la malnutrición y de métodos y medios para detectar y para tratar la malnutrición y los graves efectos que a menudo provoca.

La malnutrición afecta a la función y la recuperación de cada sistema orgánico incluyendo el sistema inmunitario, las funciones gastrointestinales y cardiorrespiratorias, pero principalmente y sobre todo altera la masa y la función muscular. La pérdida de peso debida a reducción de grasa y masa muscular, incluyendo masa orgánica, a menudo es el signo más obvio de malnutrición. La función muscular disminuye antes de que se produzcan cambios en la masa muscular, lo que sugiere que un aporte alterado de nutrientes tiene un impacto importante independiente de los efectos sobre la masa muscular. Asimismo, las mejoras en la función muscular con apoyo nutritivo se producen más rápidamente de lo que pueden justificarse por el remplazo de masa muscular en solitario (Stratton RJ et al., 2003. Disease-related malnutrition: an evidence based approach to treatment. Wallingford: CABI Publishing; Green CJ 1999. Existence, causes and consequences of disease-related malnutrition in the hospital and the community, and clinical and financial benefits of nutrition intervention. Clin Nutr 18:3-28). La regulación por disminución del bombeo de membrana celular dependiente de energía, o adaptación reductora, es una explicación para estos hallazgos. Esto ya puede suceder después de únicamente un corto período de inanición. Si, sin embargo, la ingesta alimenticia es insuficiente para cumplir las necesidades durante un periodo de tiempo más prolongado, el cuerpo extrae sus propias reservas funcionales de tejidos y empieza a descomponer el tejido de músculo esquelético para aportar aminoácidos y los almacenes de glucagón y tejido graso para obtener suficiente energía. Una masa muscular disminuida a menudo da lugar a actividad física disminuida, amplificando además los efectos perjudiciales de la malnutrición sobre la masa y función muscular. También se observa reducción en la masa muscular cardiaca en individuos desnutridos, que da lugar a un rendimiento cardiaco disminuido y el correspondiente impacto sobre la función renal reduciendo la perfusión renal y la tasa de filtración glomerular. Además, una función muscular respiratoria y diafragmática alterada reduce la fuerza con que se tose, dando lugar a dificultades en la expulsión de secreciones por parte de los pulmones y retardando la recuperación de infecciones de las vías respiratorias.

Una nutrición adecuada también es importante para conservar la función gastrointestinal: la malnutrición crónica provoca cambios en las funciones exocrinas pancreáticas y vesicales, el flujo sanguíneo intestinal, la arquitectura de

las vellosidades y la permeabilidad intestinal. El colon pierde su capacidad de reabsorber agua y electrolitos y la secreción de iones y líquidos se produce en el intestino delgado y grueso. Esto puede provocar diarrea, que está asociada con una tasa de mortalidad incluso mayor en pacientes desnutridos ya debilitados.

Además se ha descrito que la ausencia de suficientes nutrientes retarda la curación de heridas en pacientes quirúrgicos desnutridos y afecta negativamente al sistema inmunitario, aumentando de ese modo el riesgo de infección debido a inmunidad celular y función de citocinas, complemento y fagocitos alteradas. Además de estas consecuencias físicas, la malnutrición también provoca efectos psicosociales tales como apatía, depresión, ansiedad y abandono de sí mismo, empeorando además el progreso de la enfermedad.

El documento US2015/164833A1 divulga una composición nutritiva que comprende ácido ursólico. La divulgación se centra en el desarrollo cerebral y no se pronuncia sobre la recuperación de masa corporal después de malnutrición y/o atrofia muscular.

Kunkel et al., Cell Metabolism 13, 627-638, 2011 divulga un efecto inhibidor del ácido ursólico sobre la atrofia muscular.

El documento WO2014/055905 divulga un método de reducción de la degradación de proteínas musculares, donde un se usa una composición nutritiva, que contiene concentrado de proteína de la leche y vitamina D3 y preferiblemente también isoleucina, leucina y valina.

El documento WO2014/099904A1 divulga un método para potenciar la función motora usando un estímulo vibracional en combinación con una composición nutritiva. La composición nutritiva contiene una fuente de proteína tal como proteína de la leche y puede contener uno o más ingredientes funcionales, destacando, entre muchos otros, componentes tales como leucina, isoleucina, valina, ácido ursólico y vitamina D.

Uno de los inconvenientes de las composiciones nutritivas de la técnica conocida es que muchos de dichos complementos, o dichos alimentos funcionales, están compuestos de compuestos que por sí mismos pueden atribuirse a una mejor salud, pero para los que se desconocen los efectos a corto y largo plazo que tienen sobre la inversión de la malnutrición. En general, se carece de datos científicos de respaldo (o no están publicados). Además, muchos de los ingredientes en las composiciones de la técnica conocida son productos alimenticios en general disponibles que pueden combinarse y ofrecerse para su venta sin ninguna restricción en términos de aprobación gubernamental y sin ningún requisito de datos científicos que respalden los efectos positivos reivindicados. Hay una fuerte necesidad de composiciones nutritivas que sean eficaces en el tratamiento de la malnutrición, en las que los efectos sobre la malnutrición estén respaldados por datos científicos sólidos y no únicamente basados en creencias generales sobre lo que puede considerarse "sano" o no.

Explicación de la invención

Uno de los objetivos de la invención es proporcionar nuevas composiciones nutritivas que puedan usarse para tratar la malnutrición y que causen un aumento en el peso corporal y/o inviertan los efectos devastadores de la atrofia muscular, en las que dichas composiciones se ensayan en experimentos científicos sólidos y las conclusiones respecto a sus efectos se basen en datos científicos significativos.

Un primer aspecto de la invención proporciona una composición nutritiva líquida o semilíquida que comprende: de 70 a 200 mg/ml proteínas lácteas, de 30 a 45 ng/ml de vitamina D o un derivado de la misma; y de 0,2 a 0,8 mg/ml de ácido ursólico; en la que la relación de caseína:lactosuero en dichas proteínas lácteas varía de 20:80 a 80:20 y en la que de un 30 a un 45 % del contenido de aminoácidos total es una mezcla de leucina, isoleucina y valina. En una realización preferida (o realizaciones), la relación de caseína:lactosuero es de aproximadamente 60:40, y/o la composición de la invención está sustancialmente libre de otras proteínas además de caseína y lactosuero, y/o la concentración de proteínas lácteas es de aproximadamente 100 mg/ml y/o la concentración de ácido ursólico es de aproximadamente 0,35 mg/ml y/o la concentración de vitamina D o un derivado de la misma es de aproximadamente 37,5 ng/ml.

La invención también se refiere a una composición nutritiva líquida o semilíquida que comprende los constituyentes con sus concentraciones respectivas enumerados en la tabla II como se divulga en este documento, y que comprende además de 0,2 a 0,8 mg/ml de ácido ursólico.

La invención también se refiere a una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de un paciente que padece malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular. Como se resume en la memoria descriptiva, la malnutrición en este caso se refiere preferiblemente a desnutrición.

Breve descripción de los dibujos

Estos y otros aspectos de la invención son evidentes a partir de y se dilucidarán con referencia a las realizaciones

descritas posteriormente en este documento. En los dibujos, los efectos de la materia en cuestión reivindicada se sustancian adicionalmente.

La fig. 1 muestra el resumen esquemático del diseño del estudio del experimento de privación-realimentación del ejemplo 1. En este estudio, a los animales se les proporcionó una dieta restringida (60 % de ingesta diaria normal) durante una determinada cantidad de tiempo (fase de privación) para inducir un estado de malnutrición, en que los animales habían perdido aproximadamente un 25 % de su peso corporal. En la siguiente fase de realimentación, las dietas restringidas se complementaron con pienso normal de ratón ("comida") hasta sus niveles de ingesta normales (100 %) o cantidades equivalentes del producto de nutrición médica existe Nutridrink Compact Protein (Nutridrink CP, Nutricia, Países Bajos) o la composición novedosa de la presente invención, denominada Vital01. Los animales no privados, mantenidos con una dieta normal de comida al 100 % sirvieron como grupo de control para este estudio. Desde el inicio de la fase de realimentación, se realizaron mediciones diarias del peso corporal total y la masa corporal magra para todos los grupos. El final del estudio (e.o.s.) se definió como el día en que los primeros animales en cualquiera de los grupos de realimentación alcanzaron peso corporal normal, es decir, el peso corporal promedio de animales de control no privados. Las muestras iniciales o de referencia se recogieron en el punto temporal pertinente: el inicio del estudio, el final de la fase de privación y el final del estudio. Se muestran los diferentes grupos dentro del experimento con su número respectivo de animales, la línea temporal experimental y la composición de realimentación que se proporcionó. En el panel inferior una "x" indica la acción que se emprendió en ese día particular del estudio. t = 0 es el primer día del periodo de privación durante el que los grupos 3-6 se limitaron en su aporte energético diario hasta un 60 % de su ingesta normal (la ingesta normal de alimentos se determinó en las dos semanas precedentes antes de la privación) como se indica por la flecha gruesa. Este periodo duró dos semanas e incluyó el día 13 (t = 13). En el día 14 (t = 14) empezó la realimentación para los grupos 4-6. Los animales de control en el grupo 1 se sacrificaron en el día 1 (t = 1) para obtener niveles iniciales para la masa, peso y características musculares. Los animales de control en el grupo 2 se mantuvieron con una dieta normal al 100 % durante todo el estudio y se sacrificaron al final del estudio (t = e.o.s.) para obtener valores de referencia para el peso corporal y las características musculares. Para estudiar los efectos de la privación sobre el peso corporal y las características musculares, los animales en el grupo 3 se sacrificaron en el día 14 al final del periodo de privación.

La fig. 2 muestra la disminución en el peso corporal total de los ratones, promediado para todos los animales en los grupos 3-6 (que se mantuvieron con la dieta de un 60 % de kcal durante dos semanas) en comparación con animales no privados en el grupo de control 2 (que recibían su ingesta diaria de un 100 % de kcal). En el día 13, los ratones habían perdido aproximadamente un 25 % de su peso corporal total en todos los grupos de privación. También se muestra que esta pérdida de peso era significativa (valor de $p < 0,05$).

La fig. 3 muestra el efecto sobre el peso corporal total (en gramos) después de la realimentación con cantidades normales de pienso convencional para ratones (dieta Ssniff R/M, control de comida al 100 %) y la composición novedosa de la presente invención, denominada Vital01. Por motivos de comparación, se proporcionó la formulación Nutridrink CP disponible en el mercado y ampliamente prescrita a un grupo de animales. Sorprendentemente, y superando las expectativas iniciales de los investigadores, los animales que recibieron Vital01 aumentaron de peso corporal mucho más rápido de lo previsto. Aunque la mitad de los animales en el grupo de Vital01 alcanzaron un peso corporal completo normal ya después de 5 días de realimentación (se recuperó un promedio de un 96 % de la pérdida de peso), los animales en el grupo de control con comida habían recuperado únicamente un 47 % de la pérdida de peso, mientras que los animales con Nutridrink CP habían recuperado solamente un 65 % de la pérdida de peso en 5 de días de realimentación de promedio. Para maximizar la ventana de análisis, por lo tanto, se decidió empezar a sacrificar a los animales después de 6 días de realimentación (correspondiente a t = 20 en el diseño del estudio original como se representa en la fig. 1).

La fig. 4 muestra los efectos sobre la masa corporal magra (en gramos) después de realimentación con comida normal al 100 % (control) y las composiciones Nutridrink CP y Vital01. De nuevo, la realimentación con la composición Vital01 produjo un aumento más rápido de la masa corporal magra en comparación con Nutridrink CP y control de comida al 100 %.

La fig. 5 es un diagrama de barras que muestra la masa (en gramos) del músculo cuádriceps después de realimentación y sacrificio. Las barras representan (de izquierda a derecha): la medida inicial con comida, el grupo de atrofia muscular, el grupo realimentado con comida al 100 % de control, el grupo de Nutridrink CP y el grupo de Vital01. El aumento en la masa observado en todos los grupos de realimentación fue significativo en relación con el grupo de atrofia muscular mientras que únicamente para el grupo de Vital01, el aumento en la masa del cuádriceps observado fue significativo en comparación con el grupo de control de comida al 100 %.

La fig. 6 es un diagrama de barras que muestra la masa (en gramos) del músculo gastrocnemio después de sacrificio y después de realimentación. Las barras representan (de izquierda a derecha): la medida inicial con comida, el grupo de atrofia muscular, el grupo realimentado con comida al 100 % de control, el grupo de Nutridrink CP y el grupo de Vital01. El aumento en la masa observado en todos los grupos de realimentación fue significativo en relación con el grupo de atrofia muscular mientras que el aumento en la masa del gastrocnemio observado en el

grupo de Vital01 fue significativo en comparación con el grupo de control de comida al 100 % y el grupo de Nutridrink CP.

La fig. 7 es un diagrama de barras que muestra la masa (en gramos) del músculo sóleo después de sacrificio y después de realimentación. Las barras representan (de izquierda a derecha): la medida inicial con comida, el grupo de atrofia muscular, el grupo realimentado con comida al 100 % de control, el grupo de Nutridrink CP y el grupo de Vital01. No se observó diferencia significativa en la masa de este músculo particular entre los diferentes grupos de realimentación. La masa del músculo volvió a los niveles normales después de realimentación en todos los grupos de realimentación.

La fig. 8 es un diagrama de barras que muestra la masa (en gramos) del músculo tibial después de sacrificio y después de realimentación. Las barras representan (de izquierda a derecha): la medida inicial con comida, el grupo de atrofia muscular, el grupo realimentado con comida al 100 % de control, el grupo de Nutridrink CP y el grupo de Vital01. Aunque se midió el aumento en la masa en los grupos de Nutridrink CP y Vital01 frente al grupo de control de comida al 100 %, no se observó diferencia significativa en la masa de este músculo particular entre los diferentes grupos de realimentación.

La fig. 9 es un diagrama de barras que muestra la masa (en gramos) del hígado después de sacrificio y después de realimentación. Las barras representan (de izquierda a derecha): la medida inicial con comida, el grupo de atrofia muscular, el grupo realimentado con comida al 100 % de control, el grupo de Nutridrink CP y el grupo de Vital01. El hígado había perdido una masa importante tras la privación y recuperó masa tras la realimentación en todos los grupos de realimentación, alcanzando casi niveles normales justo antes del sacrificio. No se observaron diferencias en el aumento en la masa hepática entre los diferentes grupos de realimentación.

La fig. 10 muestra los cálculos estadísticos para las diferencias entre grupo en el peso corporal y en el peso muscular en SPSS usando un ensayo de Kruskall-Wallis no paramétrico seguido de Mann-Whitney. Se proporcionan los valores de p para la comparación del peso corporal (n = 10) entre los grupos en el día 0 (inicio del protocolo de realimentación) hasta el día 6 (sacrificio). Se aprecia que un pequeño valor de p (< 0,05) significa que las diferencias en el peso corporal que se midieron es poco probable que se deban a muestreo aleatorio.

La fig. 11 muestra los cálculos estadísticos empleados para las mediciones de masa muscular en todos los grupos. Es importante resaltar que el aumento en la masa muscular en los animales tratados con Vital01 es significativamente mayor que el comparador Nutridrink CP (indicado en la tabla por un asterisco).

Descripción detallada de realizaciones

La buena nutrición es una parte vital de los cuidados. Los buenos cuidados nutritivos abarcan examen nutricional para identificar pacientes en riesgo nutricional y programación de los cuidados para asegurar que los pacientes reciben la nutrición correcta, en el momento correcto. La intervención nutricional adopta muchas formas desde proporcionar alimentos nutritivos apetitosos, hasta ayudar a las personas a comer y beber para proporcionar un soporte de nutrición artificial adaptado.

La "malnutrición" como se usa en este documento se define como un estado de nutrición en que una deficiencia, exceso o desequilibrio de energía, proteínas y otros nutrientes causa efectos adversos medibles sobre la forma tisular/corporal (forma, tamaño y composición corporal), función y resultado clínico. Aunque esta definición en general se refiere a sobrenutrición (sobrepeso/obesidad) y desnutrición, los métodos y medios de la presente invención se aplican predominantemente y muy preferiblemente para tratar la desnutrición. En otras palabras, la malnutrición, como se usa en este documento, se refiere a desnutrición. La malnutrición abarca además el concepto adicional de riesgo nutricional, que refleja la práctica común por la que estos términos a menudo se usan de manera intercambiable.

"Nutrición médica" es una expresión usada para describir productos disponibles (en el mercado) para soporte nutricional, incluyendo complementos nutritivos orales (ONS, véase la definición a continuación), alimentos para sondas enterales y nutrición parenteral. La nutrición médica cumple las necesidades nutricionales del paciente que en general no se cumplen por la dieta normal. Incluye en el estado inmunológico, bioquímico y metabólico del paciente y, de este modo, proporciona beneficios clínicos significativos. Preferiblemente, los ONS usan ingredientes basados en alimentos con registros de seguridad bien establecidos y son de acuerdo con las directrices europeas de FSMP (Alimentos con fines médicos especiales).

"Nutrición enteral" como se usa en este documento se refiere en general a cualquier método de alimentación que use el tubo gastrointestinal para suministrar parte o la totalidad de las necesidades calóricas y nutritivas de una persona. Puede incluir una dieta oral normal, el uso de complementos nutritivos orales o el suministro de parte o la totalidad de las necesidades diarias a través de alimentación por sonda mediante diferentes vías tales como nasoentérica, nasogástrica, nasoduodenal, nasoyeyunal, rectal o a través de sonda percutánea.

"Evaluación nutricional" se refiere a una evaluación detallada, más específica y en profundidad del estado nutricional de un paciente, típicamente por un individuo/médico con experiencia en nutrición (por ejemplo, un dietista, médico que estudia la nutrición o un enfermero especialista en nutrición) o por un equipo de apoyo nutricional. Esto habitualmente se realizará en el caso de problemas nutricionales identificados por el proceso de examen o cuando haya incertidumbre acerca del curso de acción apropiado. El proceso de evaluación permite desarrollar planes de cuidados nutricionales más específicos para el paciente individual. Preferiblemente, de acuerdo con la presente invención, la evaluación nutricional incluye la evaluación del estado del paciente o el riesgo con respecto a atrofia muscular, para la que pueden requerirse tratamientos especificados. Son indicativos de una mal nutrición, por ejemplo, la aparición de un bajo índice de masa corporal (IMC), pérdida de peso no pretendida, pérdida de apetito e ingesta de alimentos que parece insuficiente para cumplir las necesidades promedio y normales. Una escasa fuerza muscular y/o atrofia también son indicativos de malnutrición o para intervención nutricional.

Cuando se aprecia malnutrición, en general está seguida de un programa de cuidados que incluye varias actividades que incluyen examen nutricional, programación de los cuidados, intervenciones nutricionales (alimentos, ONS, alimentación por sonda y/o parenteral) y seguimiento diseñado para asegurar que se evalúan, cumplen y revisan de forma regular las necesidades nutricionales del paciente. La malnutrición grave (desnutrición grave) en general es clínicamente obvia. No obstante, puede haber incertidumbre acerca del reconocimiento de grados más leves de malnutrición y eventos que se producen como consecuencia de la malnutrición, tal como atrofia muscular y otras enfermedades y trastornos relacionados con malnutrición. En ausencia de criterios aceptados de manera universal para identificar la malnutrición con alta sensibilidad y especificidad, se invoca el concepto de riesgo nutricional. El riesgo es una medida de la probabilidad de que se presente o probablemente se desarrolle malnutrición y/o atrofia muscular. También refleja el riesgo de un mal resultado como resultado de un estado nutricional alterado. Un paciente que padece malnutrición y trastornos relacionados con malnutrición tales como pérdida de peso corporal y/o atrofia muscular, en general se denominan sujetos humanos que padecen malnutrición (y/o atrofia muscular) que están en necesidad de tratamiento. El examen nutricional es un procedimiento rápido, simple y general usado por personal de enfermería, médico u otro personal, para detectar aquellos que están en riesgo de padecer problemas nutricionales, de modo que pueda emprenderse una acción, preferiblemente mediante administración de las composiciones de la presente invención, o en otro aspecto, proporcionando los métodos de tratamiento que se divulgan en este documento. El examen en general debe repetirse a intervalos.

"Soporte nutricional" en general se refiere a soporte que incluye alimentos, ONS (tal como los de la presente invención), alimentación por sonda y nutrición parenteral.

"Complementos nutritivos orales" (ONS) como se usa en este documento, son productos de múltiples nutrientes líquidos, semisólidos, semilíquidos o en polvo (que pueden disolverse para formar un (semi)líquido) que proporcionan macronutrientes y micronutrientes, preferiblemente con el objetivo de crecentar el aporte oral nutricional y que se añade al tratamiento de trastornos, que se han producido por malnutrición (desnutrición). Preferiblemente, los ONS son nutricionalmente completos y preferiblemente también podrían usarse como única fuente de nutrición. Los ONS son distintos de los complementos de la dieta que proporcionan vitaminas, minerales y/u oligoelementos en un formato de píldora (también conocidos como complementos alimenticios). Cuando se producen composiciones tales como las de la presente invención, tienen que considerarse las directrices europeas de FSMP como se resume en la Directiva 1999/21/EC de la Comisión del 25 de marzo de 1999 sobre alimentos de la dieta con fines médicos especiales (enmendada por la Directiva 2006/141/EC) que establece las normas para la composición y etiquetado de alimentos que se formulan específicamente, se procesan y están destinados para el control a través de la dieta de enfermedades, trastornos o afecciones médicas de individuos que se están tratando bajo supervisión médica. Estos alimentos están destinados para alimentación exclusiva o parcial de personas cuyas necesidades nutricionales no pueden cumplirse por los alimentos normales. Por supuesto, las composiciones nutritivas de la presente invención pueden comprender compuestos y agentes que están presentes (o pueden estar presentes) en determinados complementos de la dieta y alimenticios y en general disponibles. En otras palabras, la presencia de un compuesto que se administra a menudo como un ingrediente de un complemento de la dieta o en un complemento alimenticio (tal como vitaminas) no hace que las composiciones nutritivas de la presente invención sean un complemento de la dieta o un complemento alimenticio.

Debe entenderse que la definición "semilíquido" se refiere a una sustancia que fluye, pero puede fluir lentamente como un jarabe, o que tiene una textura blanda como cuajada o mantequilla (blanda) o un batido consistente. En cualquier caso, una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención puede administrarse por vía enteral, preferiblemente vía oral y en una forma adecuada, quizás incluso a petición del paciente en una forma que el paciente prefiera.

En general se considera que proporcionar un ONS es una estrategia eficaz para el tratamiento de la malnutrición en pacientes hospitalizados, personas ancianas y personas que están desnutridas. Se ha demostrado que mejora el aporte nutricional, aumenta o atenúa la pérdida de peso y mejora la función o las actividades de la vida diaria. No obstante, también se ha descubierto que la ingesta de ONS tiene poca adherencia (también denominado "cumplimiento"), un término usado para describir lo bien que un paciente sigue las recomendaciones o el plan de tratamiento. Las razones de dicha poca adherencia son variadas. Por ejemplo, muchas formulaciones de nutrición

médica son simplemente insípidas o tienen un sabor que se considera "malo" por muchas personas. Otro aspecto que aumenta el poco cumplimiento es el lento vaciado gástrico y el alto nivel de saciedad que experimentan los individuos después de tomar una porción de formulaciones de nutrición médica actualmente disponibles. La poca ingesta de alimentos y de nutrientes debido a la desventaja están en el centro de la causa de la malnutrición, por ejemplo, pacientes con cáncer pueden tener gusto alterado, náuseas y anorexia debido al tratamiento; pacientes con apoplejía u otras afecciones neurológicas pueden tener dificultades en tragar o problemas con la autoalimentación. Otras causas son la confusión, bajo estado de ánimo y alteraciones de ansiedad, problemas para masticar y tragar, dolor, vómitos, sensación de saciarse rápidamente, falta de vigilia, boca seca, estreñimiento, marginalidad, abandono de sí mismo, demencia, carencia y malas elecciones de alimentos. Las consecuencias físicas y psicosociales claves de la malnutrición son respuestas inmunitarias alteradas, fuerza muscular alterada y fatiga, inactividad, regulación alterada de la temperatura, curación alterada de las heridas, capacidad alterada de regular los electrolitos y los líquidos y funcionamiento psicosocial alterado. La inactividad grave y la fuerza muscular alterada a menudo se observan en pacientes que no pueden abandonar sus camas. Un resultado bien conocido de estar en cama durante un periodo prolongado de tiempo es deterioro muscular, la pérdida de músculo, en general denominada "atrofia muscular". La privación (malnutrición grave) y el desuso de los músculos finalmente siempre da lugar a atrofia muscular. Por tanto, aunque un paciente pueda tener o no un aporte nutricional apropiado, el hecho de que el paciente esté en cama y no pueda ejercitarse suficientemente, puede provocar y ciertamente acrecentará la aparición de atrofia muscular. La presente invención proporciona métodos y medios para contrarrestar y/o prevenir la atrofia muscular, debida a malnutrición y/o debida a desuso prolongado de los músculos, por ejemplo, en el caso de pacientes que tiene que permanecer en cama y no pueden usar sus músculos suficientemente. Las composiciones nutritivas de la presente invención tienen una composición proteínica que en general garantiza una liberación más rápida en el estómago que los productos conocidos en la técnica, predominantemente debido al alto contenido de lactosuero. El alto contenido de caseína hace que en circunstancias de bajo pH, tal como en el estómago, el producto se endurezca y precipite. La abundancia relativamente mayor de la proteína de lactosuero en las composiciones nutritivas de la presente invención causa una precipitación más lenta en el estómago y una entrada más rápida en el intestino. Este efecto hace que las personas tiendan a sentirse menos "llenas" después de tomar las composiciones nutritivas de la presente invención, en comparación con los complementos nutritivos de la técnica que tienen un alto contenido de caseína y un bajo contenido de lactosuero. Sentirse menos "lleno" asegura un mejor cumplimiento.

La atrofia muscular es un trastorno ampliamente conocido y generalizado. Se conocen composiciones que contrarrestan la atrofia muscular. Por ejemplo, el documento US 2006/0035824 (A1) divulga la administración de gOBG3, acelerando de ese modo la reorganización y diferenciación de las células musculares y tratando de ese modo el trastorno muscular.

De forma notable, la presente invención se refiere a una composición que parece única y muy beneficiosa en el tratamiento de la pérdida de peso y la atrofia muscular relacionada con la malnutrición, en comparación con los ONS conocidos en la técnica. Esto se resumen en detalle en los ejemplos adjuntos a continuación. Uno de los ingredientes preferidos en las composiciones de la presente invención es "ácido ursólico" con la fórmula química $C_{30}H_{48}O_3$, que a veces se denomina ursón, prunol, malol, ácido 3-3-hidroxi-urs-12-eno-28-oico o ácido 3-beta-3-hidroxi-urs-12-eno-28-oico. El ácido ursólico pertenece a la familia de triterpenoides pentacíclicos que también incluye sus isómeros como ácido oleanólico y todos sus análogos de origen natural y derivados tales como glucósidos. Se encuentra en muchas hierbas, plantas y frutas, tales como albahaca, arándanos y romero. Especialmente las peladuras de manzana contienen cantidades relativamente altas de ácido ursólico. Por tanto, el ácido ursólico en bajas concentraciones puede considerarse un constituyente común de la dieta humana. Al ácido ursólico se le han atribuido varias funciones incluyendo efectos antitumorales mediante la inhibición de la ruta de activación de STAT3. Se cree que previene la proliferación de las células cancerosas e induce la apoptosis. También se ha descubierto que el ácido ursólico inhibe la expresión de JNK y la activación de IL-2 de linfocitos T leucémicos Jurkat, lo que da lugar a la reducción de proliferación y activación de linfocitos T. Se ha sugerido el uso de ácido ursólico para el tratamiento de atrofia muscular (Kunkel SD et al., 2011. mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass. Cell Metab 13(6):627-638). Además, el documento WO 2012/170546 desvela el uso de al menos siete clases de compuestos incluyendo miles de derivados de los mismos para tratar la atrofia muscular. También se ha divulgado el ácido ursólico para su uso contra la enfermedad de Alzheimer (documento US 8 021 701).

Las composiciones de la presente invención tienen una relación de caseína a proteína de lactosuero que varía de 20:80 a 80:20. Nutridrink CP (como se muestra en los ejemplos) tiene una relación de caseína a lactosuero de aproximadamente 93:7. Preferiblemente, todas las proteínas en las composiciones de la presente invención son proteínas lácteas. En otros aspectos de la invención, la caseína láctea y las proteínas de lactosuero pueden complementarse con proteína de otras fuentes animales o vegetales. El término "caseína", como se usa en este documento, se refiere tanto como a caseinato como a caseína micelar. El caseinato puede ser caseinato de sodio, caseinato de calcio, caseinato de magnesio o caseinato de potasio. Preferiblemente, el caseinato es caseinato de calcio o caseinato de sodio. La proteína de lactosuero es una clase superior de proteína alimenticia. Tiene un buen perfil de aminoácidos y se sabe que aumenta la síntesis de proteínas en mamíferos (debido a su alto contenido de leucina). La proteína de lactosuero se tolera bien y como se menciona anteriormente, garantiza un vaciado gástrico

aumentado. Además, la proteína de lactosuero tiene proteínas bioactivas con propiedades inmunopotenciadoras (lactoglobulinas, α-lactoalbúmina, inmunoglobulinas, lisozima y lactoferrinas).

La presente invención se refiere a una composición líquida o semilíquida que comprende: de 70 a 200 mg/ml de proteínas lácteas; de 30 a 45 ng/ml de vitamina D o un derivado de la misma; y de 0,2 a 0,8 mg/ml de ácido ursólico; en la que la relación de caseína:lactosuero en dichas proteínas lácteas varía de 20:80 a 80:20 y en la que de un 30 a un 45 % del contenido de aminoácidos total es una mezcla de leucina, isoleucina y valina. En una realización preferida, la relación de caseína:lactosuero en dicha composición nutritiva líquida o semilíquida es de aproximadamente 60:40, y/o la concentración de proteínas lácteas es de aproximadamente 100 mg/ml, y/o la concentración de ácido ursólico es de aproximadamente 0,35 mg/ml. Como se divulga en este documento, la cantidad de proteínas lácteas que se usó fue de aproximadamente 10,56 g/100 ml, que incluye un pequeño porcentaje de grasa. Para esto, la cantidad preferida de proteínas lácteas se establece a 100 mg/ml. Debe apreciarse que la cantidad de proteínas lácteas puede variar entre 70 y 200 mg/ml en la composición para producir buenos resultados en el tratamiento de la malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular. En otra realización preferida, la composición está sustancialmente libre de otras proteínas aparte de caseína y lactosuero. Esto significa que, en un aspecto preferido de la presente invención, la proteína caseína + proteína de lactosuero suma un 100 % de la cantidad de proteínas. Por ejemplo, cuando la cantidad de proteína de caseína es de un 60 %, entonces el resto del contenido proteínico es preferiblemente un 40 %, todo de proteína de lactosuero. Las composiciones nutritivas de la invención comprenden preferiblemente una mezcla de aminoácidos de cadena ramificada libres seleccionados del grupo que consiste en leucina, isoleucina y valina. Estos aminoácidos son los tres únicos aminoácidos proteinogénicos de cadena ramificada presentes en la naturaleza, y los tres son aminoácidos esenciales para los seres humanos. Sin embargo, en el caso de que haya suficientes proteínas lácteas presentes en la composición de la presente invención en que un 30-45 % del contenido de aminoácidos total en dicha composición está compuesto de una mezcla de leucina, isoleucina y valina, no se requieren aminoácidos adicionales (libres) de estos tipos. Sin embargo, cuando el contenido de proteína láctea es tal que el intervalo de un 30-45 % de esta mezcla de aminoácidos esenciales no se alcanza, se añadirán aminoácidos libres de este tipo, preferiblemente en una premezcla. Se prefieren las cantidades de los tres aminoácidos enumeradas en la tabla II. La concentración preferida mínima de isoleucina es de un 7 %, la concentración preferida mínima de valina es de un 7 % y la concentración mínima de leucina es de un 16 %, de la suma total de aminoácidos contenidos en la composición (= 30 %). Un intervalo preferido para producir un 45 % es un 10 % de isoleucina, un 10 % de valina y un 25 % de leucina. Por tanto, en un aspecto preferido, la invención se refiere a una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención, que comprende valina e isoleucina tanto en una concentración de un 7 a un 10 % del contenido total de aminoácidos como leucina en una concentración de un 16 a un 25 % del contenido total de aminoácidos, y en la que la valina, isoleucina y leucina están presentes tanto en forma libre como en forma unida. Mucho más preferiblemente, la isoleucina y la valina están ambas presentes en una concentración de un 8 % del contenido total de aminoácidos, mientras que la isoleucina está entonces presente en una concentración de un 20 % del contenido total de aminoácidos. En otra realización preferida más, la composición nutritiva líquida o semilíquida de la presente invención también comprende vitamina D, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 37,5 ng/ml. Se sabe en la técnica que hay dos tipos de vitamina D, ambas consideradas en este documento como "derivados de vitamina D": vitamina D2 y vitamina D3, que pueden formar ambas (en solitario o en combinación) parte de la composición nutritiva de la presente invención. Preferiblemente, se usa vitamina D3.

Para el transporte, manipulación y almacenamiento es muy preferido tener mezclas de composición nutritiva en forma de polvo que pueda disolverse, dispersarse o mezclarse de otro modo en un disolvente adecuado (tal como agua o cualquier otro vehículo adecuado) justa antes de su administración. Preferiblemente el polvo, cuando se disuelve en un disolvente adecuado, forma una composición líquida o semilíquida adecuada para administración enteral, preferiblemente oral, y las cantidades de los constituyentes en el polvo son tales que se generan las cantidades correctas de ingredientes y que, preferiblemente, se genera 1/6 de la dosis diaria. Por tanto, la formulación en polvo comprende proteínas lácteas, vitamina D o un derivado de la misma, ácido ursólico; y opcionalmente una premezcla de aminoácidos que comprende leucina libre, isoleucina libre y valina libre; todo en cantidades adecuadas que, cuando se combinan con un vehículo adecuado, produce una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención. La formulación en polvo también puede comprender una premezcla de aminoácidos que comprende leucina libre, isoleucina libre y valina libre, vitamina D o un derivado de la misma; y ácido ursólico; todo en cantidades adecuadas que, cuando se combinan con un producto que contiene proteína láctea, tal como leche, suero de la leche, cuajada o yogur, produce una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención. Esto puede ser por razones de sabor o por otras razones de modo que la composición líquida o semilíquida que se produce pueda administrarse o tragarse fácilmente. El experto en la materia no tendrá problemas en calcular las cantidades correctas en la formulación en polvo para producir una composición nutritiva líquida o semilíquida como se divulga en este documento para su administración adecuada a una persona o paciente que lo necesita. Claramente, cuando se usan productos lácteos, tal como leche, suero de la leche, cuajada o yogur (o cualquier otro producto lácteo derivado de la leche adecuado que prefiera el paciente) para disolver o combinar con las formulaciones en polvo, las cantidades, concentraciones y/o porcentajes de proteínas lácteas en las mismas pueden calcularse fácilmente y las cantidades adecuadas de los otros constituyentes que se divulgan en este documento pueden añadirse para producir una composición nutritiva líquida o semilíquida de la presente invención. La formulación en polvo está "sustancialmente seca", lo que significa que puede haber

cantidades mínimas de líquido (del aire o de otro modo) presentes, pero que el polvo es de flujo libre y en principio adecuado para manipulación, disolución, transporte y/o almacenamiento (a largo plazo).

En otro aspecto más de la invención, la composición líquida o semilíquida de la presente invención es una dosis de 100 ml en la que los compuestos se disuelven o dispersan o recogen, preferiblemente por una dispersión única de un polvo en un disolvente adecuado para producir finalmente una composición nutritiva de acuerdo con la presente invención. Una dosis de 100 ml es adecuada para administración oral y en general es adecuada como 1/6 de la dosis diaria. Preferiblemente, el líquido en que se disuelve el polvo es agua. El polvo puede venir en envases que pueden usarse fácilmente para disolver el polvo en un disolvente. Por tanto, para una dosis diaria, se proporcionan 6 envases de polvo que pueden disolverse cada uno por separado, o como alternativa, se proporciona un polvo que contiene tanto como una dosis diaria completa y, después de disolverla, puede consumirse a lo largo de un solo día. Se entenderá que puede ofrecerse diferentes combinaciones de esto, dependiendo de los deseos y las capacidades del sujeto que consume la composición de la presente invención. En ese caso, el polvo puede contener o no proteínas lácteas ya que las proteínas lácteas requeridas vienen del disolvente en que se disuelve el polvo. En cualquier caso, el resultado será una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención. En conclusión, cuando se disuelve un polvo en un disolvente que no contiene proteínas lácteas, el polvo contiene las proteínas lácteas en las cantidades que se divulga en este documento. En el caso de que el polvo se disuelva en un disolvente que ya contiene proteínas lácteas, el polvo puede carecer de proteínas lácteas, o puede contener proteínas lácteas en dichas cantidades adecuadas de modo que el resultante es una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la presente invención y como se usa y divulga en este documento. Los expertos en la materia podrán determinar la cantidad de proteínas lácteas tales como caseína y lactosuero, determinar su relación y, basándose en eso, determinar la cantidad de proteínas lácteas a añadir al polvo para conseguir las cantidades correctas de proteínas lácteas cuando se desea una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la presente invención. Lo mismo se aplica para las concentraciones de los aminoácidos esenciales leucina, isoleucina y valina, que pueden estar presentes (todos) en las proteínas lácteas, pero que también pueden añadirse como aminoácidos libres para alcanzar las concentraciones de las composiciones de la presente invención.

En otra realización preferida, la invención se refiere a una composición nutritiva líquida o semilíquida que comprende los constituyentes con sus concentraciones respectivas enumeradas en la tabla II y que comprende además de 0,2 a 0,8 mg/ml de ácido ursólico. Las cantidades en general se disuelven para formar un líquido o semilíquido para administración enteral. Preferiblemente, y de acuerdo con se ha indicado anteriormente, las cantidades de la tabla II conjuntamente con las cantidades adecuadas de ácido ursólico se disuelven para formar un líquido o semilíquido para administración enteral de aproximadamente 100 ml, que es aproximadamente 1/6 de la ración diaria para tratar la malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular. Con fines de almacenamiento, manipulación y transporte, se prefiere para esta composición que las composiciones nutritivas se mantengan en un estado sustancialmente seco, tal como una formulación en polvo. "Sustancialmente" como se usa en este documento se refiere a un polvo que puede manipularse fácilmente, que es de flujo libre y que en general no se adhiere al recipiente en que se mantiene. Los expertos en la materia son conscientes de los métodos para producir dichos polvos de los ingredientes dados.

Para la administración a través de vías enterales, pueden usarse diferentes tipos de líquidos o semilíquidos. Un polvo preferiblemente se disuelve, dispersa o mezcla en un vehículo adecuado tal como agua, té, zumo de frutas o verduras, un tampón adecuado, gel, pudín o yogur para obtener una composición nutritiva de la presente invención que puede administrarse fácilmente bebiéndola o, por ejemplo, mediante alimentación por sonda. Claramente, cuando el polvo se dispersa, por ejemplo, en yogur, u otros productos lácteos, proteínas adicionales llegan a formar parte de la sustancia que se administra, véase anteriormente. De forma notable, puede seleccionarse un vehículo adecuado por un usuario o consumidor basándose en la preferencia personal y puede contener cantidades intrínsecas de proteína, vitaminas u otros ingredientes que no se contabilizan en la tabla II. Por tanto, la presente invención, en otra realización, también se refiere a una composición líquida o semilíquida para suministro oral en que se disuelve el polvo. La disolución de la formulación en polvo puede producirse en cualquier momento antes del consumo, tal como directamente antes o antes de que se ofrezca la composición en un recipiente tal como un frasco o un tubo, siempre que no se estropee o se descomponga.

En otro aspecto más, la invención se refiere a una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención para su uso en el tratamiento de un paciente que padece malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular.

De forma notable, la malnutrición (desnutrición), pérdida de peso y atrofia muscular pueden estar relacionadas en el sentido de que se produce pérdida de peso porque el músculo sufre atrofia, pero también puede ser que no estén relacionadas. La pérdida de peso puede producirse independientemente de la malnutrición, pero puede deberse a atrofia muscular que es el resultado de otro trastorno distinto a la malnutrición. Además, la pérdida de peso puede no deberse completamente a la pérdida muscular o a la atrofia muscular. Y, la atrofia muscular puede ser el resultado de malnutrición, también puede ser el resultado del desuso de los músculos, no directamente como resultado de malnutrición, sino, por ejemplo, debido a inmovilidad prolongada. En otra realización, la atrofia muscular o la pérdida de peso puede no estar relacionada con la malnutrición, sino que puede ser el resultado de otro trastorno/enfermedad tal como cáncer o SIDA. Por tanto, las composiciones nutritivas de la presente invención

pueden administrarse para el tratamiento de trastornos relacionados con la malnutrición tales como atrofia muscular, mientras que también pueden usarse en el tratamiento de la atrofia muscular que no está causada directamente por la malnutrición. En cualquier caso, la administración de las composiciones nutritivas de la presente invención provoca aumento de peso muscular y, por tanto, aumento de peso e invierte la atrofia muscular. Muy preferiblemente, sin embargo, las composiciones nutritivas de la presente invención se usan en el tratamiento de la malnutrición y trastornos relacionados con la malnutrición.

En otra realización más, la presente invención se refiere a ácido ursólico para su uso en el tratamiento de la malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular. Y en otra realización, la presente invención se refiere al uso de ácido ursólico en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular.

La presente invención también se refiere a un método para el tratamiento de un sujeto mamífero que padece malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular, que comprende las etapas de administración de una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la invención a dicho sujeto mamífero; controlar la tasa de malnutrición de dicho sujeto mamífero y/o el peso de dicho sujeto mamífero, y/o la tasa de atrofia muscular en dicho sujeto mamífero; y opcionalmente ajustar la cantidad de ácido ursólico y/o una composición de acuerdo con la invención a administrar. Se prevé que, si el aumento de peso o la inversión de la malnutrición y/o la atrofia muscular no es suficiente, la cantidad de ácido ursólico o composición administrada de acuerdo con la invención puede alterarse y, preferiblemente, aumentarse respecto a lo inicialmente administrado, dependiendo del resultado de la evaluación del sujeto mamífero que recibe la administración. En todos los aspectos de la presente invención, el sujeto mamífero como se menciona en este documento es preferiblemente un sujeto humano. Se calculó por los autores de la presente invención que las cantidades de constituyentes, ejemplificadas en la tabla II deben administrarse preferiblemente al sujeto mamífero seis veces al día, que es, por lo tanto, la pauta preferida. Sin embargo, dependiendo del sujeto a tratar, la gravedad de la pérdida de peso, la malnutrición y/o la atrofia muscular, y la naturaleza del vehículo, pueden aumentarse o disminuirse los volúmenes de dosificación y los intervalos.

En una realización, la composición nutritiva de la presente invención comprende además carbohidrato en una cantidad de aproximadamente 6 a aproximadamente 20 gramos por 100 Kcal de la composición, tal como de aproximadamente 7 a aproximadamente 18,5, de aproximadamente 8 a aproximadamente 16, de aproximadamente 9 a aproximadamente 14,5, de aproximadamente 10 a aproximadamente 13, tal como aproximadamente 11 gramos por 100 Kcal de la composición. Cuando la composición de acuerdo con la invención es una composición líquida o semilíquida, puede comprender carbohidrato en una cantidad de aproximadamente 150 a aproximadamente 480 mg/ml, tal como de aproximadamente 160 a aproximadamente 440 mg/ml, de aproximadamente 170 a aproximadamente 400 mg/ml, de aproximadamente 180 a aproximadamente 360 mg/ml, de aproximadamente 190 a aproximadamente 320 mg/ml, de aproximadamente 200 a aproximadamente 280 mg/ml, y preferiblemente de aproximadamente 210 a aproximadamente 270 mg/ml. Los carbohidratos adecuados usados en la composición son monosacáridos, disacáridos, polisacáridos y oligosacáridos. En una realización, los carbohidratos se seleccionan de maltodextrina y azúcares, donde los azúcares adecuados pueden ser glucosa, fructosa, sacarosa, maltodextrinas.

En una realización, la composición de la presente invención comprende además una o más grasas en una cantidad de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 5,5 gramos por 100 Kcal de la composición, tal como de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,0, de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 4,5, tal como aproximadamente 4,0 gramos por 100 Kcal de la composición. Cuando la composición de acuerdo con la invención es una composición líquida o semilíquida, puede comprender una o más grasas en una cantidad de aproximadamente 40 a aproximadamente 140 mg/ml, tal como de aproximadamente 52 a aproximadamente 132 mg/ml, de aproximadamente 64 a aproximadamente 124 mg/ml, de aproximadamente 76 a aproximadamente 116 mg/ml, tal como de aproximadamente 88 a aproximadamente 108 mg/ml, tal como aproximadamente 96 mg/ml. Las grasas adecuadas son grasas monoinsaturadas, poliinsaturadas y saturadas. En una realización, la una o más grasas se seleccionan del grupo que consiste en grasa de la leche y aceites vegetales.

En una realización, la composición nutritiva de la presente invención comprende además aminoácidos de cadena ramificada, leucina, isoleucina y valina en una cantidad de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3,0 gramos por 100 Kcal de la composición, o de aproximadamente 12 a aproximadamente 72 mg/ml si la composición es una composición líquida o semilíquida para leucina; de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2,0 gramos por 100 Kcal de la composición o de aproximadamente 4,8 a aproximadamente 48 mg/ml si la composición es una composición líquida o semilíquida para isoleucina; y de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 2,0 gramos por 100 Kcal de la composición o de aproximadamente 4,8 a aproximadamente 48 mg/ml si la composición es una composición líquida o semilíquida para valina. En una realización preferida, la cantidad de leucina es de aproximadamente 0,75 a aproximadamente 2,0, preferiblemente aproximadamente 1,0 gramos por 100 Kcal de la composición o, la composición es un líquido o semilíquido, de aproximadamente 18 a aproximadamente 48 mg/ml, preferiblemente aproximadamente 24,7 mg/ml. En una realización preferida, la cantidad de isoleucina es de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0, preferiblemente aproximadamente 0,44 gramos por 100 Kcal de la composición o, si la composición es un líquido o semilíquido de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 24 mg/ml, preferiblemente aproximadamente 10,6 mg/ml. En una realización preferida, la cantidad de isoleucina es de

aproximadamente 0,3 a aproximadamente 1,0 l, preferiblemente aproximadamente 0,45 gramos por 100 Kcal de la composición o, si la composición es un líquido o semilíquido de aproximadamente 7,2 a aproximadamente 24 mg/ml, preferiblemente aproximadamente 10,8 mg/ml.

En una realización, la composición de la presente invención comprende además calcio, cloro, fósforo, hierro, yodo, potasio, cobre, magnesio, manganeso, sodio, selenio, cinc y/u otras sales. En otra realización, la composición comprende además cromo, molibdeno y/o sales de los mismos. En otra realización de la invención, la composición comprende fluoruro. En una realización muy preferida de la invención, la composición comprende estos elementos en cantidades que cumplen las regulaciones para composiciones de nutrición médica, tales como, por ejemplo, la Directiva 1999/21/EC de la Comisión del 25 de marzo de 1999 en la Unión Europea.

En una realización, la composición de la presente invención comprende además vitamina C, vitamina E, vitamina A, vitamina B3, vitamina D, ácido pantoténico, vitamina K1, vitamina B1, vitamina B6, vitamina B2, ácido fólico, biotina y vitamina B12. En una realización muy preferida de la invención, la composición comprende estas vitaminas en cantidades que cumplen las regulaciones para composiciones de nutrición médica, tales como, por ejemplo, la Directiva 1999/21/EC de la Comisión del 25 de marzo de 1999 en la Unión Europea.

En realizaciones adicionales, también es posible añadir además uno o más de los siguientes componentes seleccionados de la lista que consiste en metabolitos de leucina tales como β-hidroxi β-metilbutirato (HMB), glutamina, carnitina, beta-alanina, carnosina, creatina, péptidos bioactivos y ácidos grasos omega-3 tales como EPA y DHA.

Los diferentes componentes de una composición nutritiva de acuerdo con la presente invención pueden variarse dentro de los intervalos dados para cada componente independientemente unos de otros. En determinadas situaciones, puede conseguirse un efecto incluso más óptimo eligiendo un óptimo para una pluralidad de componentes en combinación.

Debe apreciarse que las realizaciones mencionadas anteriormente ilustran, en lugar de limitar, la invención, y que los expertos en la materia podrán diseñar muchas realizaciones alternativas. En las reivindicaciones, el uso del verbo "comprender" y sus conjugaciones no excluye la presencia de elementos o etapas distintos de los indicados en una reivindicación. El artículo "un/o" o "una" precediendo a un elemento no excluye la presencia de una pluralidad de dichos elementos.

Ejemplos

Ejemplo 1. Masa corporal y peso muscular después de malnutrición y posterior ingesta de diferentes composiciones nutritivas.

El objetivo de este estudio fue establecer las condiciones para productos nutritivos de aumento de peso para evaluar los efectos de una composición nutritiva novedosa con respecto al aumento de peso y la composición corporal, en el contexto de salud orgánica metabólica e inflamación de grado bajo. El diseño del estudio se muestra en la fig. 1. Se alojaron individualmente cincuenta ratones C57BL/6 macho maduros con un peso inicial de 25-28 g. Se usó una dieta de comida para ratones convencional (R/M Sniff® convencional) como alimento básico y se proporcionó suficiente agua *ad libitum* durante la totalidad del experimento.

Antes de iniciar el experimento, todos los ratones se aclimataron durante dos semanas durante las que se determinó individualmente por ratón la ingesta de alimento de la dieta de roedores convencional (comida al 100 %). El grupo 1 (n = 5) se sacrificó en el día 1 del estudio para establecer valores de referencia para la masa muscular del gastrocnemio, cuádriceps y sóleo de las extremidades posteriores al inicio del estudio (medida inicial). El grupo 2 (n = 5) se mantuvo en condiciones normales de comida al 100 % durante la totalidad del experimento hasta el sacrificio al final del estudio, para calcular y comparar los pesos corporales y musculares con los de los grupos 3-6 de intervención. En el día 0, se inició la fase de restricción calórica, también denominada fase "de privación": los animales en los grupos 3-6 (en total 40 animales) recibieron un 60 % de su dieta de comida consumida típicamente en condiciones *ad lib* (que se estableció como un 100 % de kcal que se determina individualmente en el periodo de aclimatación precedente). Esta pauta de alimentación se mantuvo hasta que se alcanzó una pérdida de peso promedio de ~23 % en todos los grupos. El grupo 3 (n = 10) se sacrificó en t = 14 d para definir el efecto de la restricción calórica: la disminución en el peso corporal total y la tasa de atrofia muscular. Para la posterior fase de aumento de peso (también denominada fase "de realimentación"), los 30 animales restantes se hicieron coincidir en el peso corporal y finalmente se dividieron en los grupos 4, 5 y 6 (10 animales por grupo). De t = 14 en adelante, estos animales con restricción calórica siguieron con su dieta de comida al 60 % de kcal complementada con las cantidades predefinidas de los productos de aumento de peso, de acuerdo con la siguiente pauta:

- Grupo 4 (n = 10): comida al 60 % de kcal + comida al 40 % de kcal, que es igual a un 100 % de ingesta de alimento inicial usando dieta convencional de comida;
- Grupo 5 (n = 10): comida al 60 % de kcal + Nutridrink Compact Protein (Nutridrink CP) en una cantidad que es

igual a un 40 % de kcal del aporte energético inicial;

- Grupo 6 (n = 10): comida al 60 % de kcal + Vital01 en una cantidad que es igual al contenido de proteína (en gramos) de Nutridrink CP que se proporciona al grupo 5.

La restricción calórica y la pauta de realimentación se basaron en Gallardo et al., (Gallardo CM. et al., 2014. Behavioral and neural correlates of acute and scheduled hunger in C57BL/6 mice. Plos One 9(5): 1-12) y Williams et al., (Williams TD. et al., 2002. Cardiovascular responses to caloric restriction and thermoneutrality in C57BL/6J mice. Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol 282:R1459-R1467) que mostraron una disminución rápida en el peso corporal y posterior estabilización en 14 a 21 días. Nutridrink CP es un alimento médico nutricionalmente completo y disponible en el mercado vendido por Nutricia, Países Bajos. Nutricia es una empresa completamente propiedad de Danone. Esencialmente el mismo producto se vende también con el nombre Fortisip Compact Protein. La versión que se usó en este ejemplo contiene 240 kcal por 100 ml con las características mostradas en la tabla I.

Tabla I. Contenido de los compuestos que aportan energía en Nutridrink Compact Protein (recogido del panfleto adjunto). Los minerales, oligoelementos, vitaminas, sales y líquidos no se enumeran aquí.

Grasa (35 % de energía)	9,4 g
Saturada	0,9 g
Grasa monoinsaturada	5,7 g
Grasa poliinsaturada	2,8 g
- ácido linoleico	2,1 g
- ácido α-linolénico	0,4 g
Carbohidratos (41 % de energía)	24,4 g
Glucosa	0,2 g
Lactosa	0,3 g
Maltosa	0,8 g
Sacarosa	12,0 g
Polisacáridos	11,0 g
Otros	0,1 g
Proteína (24 % de energía)	14,4 g
Caseína	13,4 g
Lactosuero	1,0 g

La composición macronutriente, así como el valor calórico de los compuestos de ensayo de acuerdo con la presente invención (Vital01) difieren de Nutridrink CP en que contiene 14,4 g/100 ml de proteína diaria total que comprende una relación de caseína:lactosuero de aproximadamente 93:7. Como se aprecia anteriormente, para cada uno del grupo 5 y 6, se administraron cantidades iguales de proteína (en gramos). Nutridrink CP se manipuló según lo recomendado por el fabricante. Vital01 se preparó añadiendo 35 mg de ácido ursólico a 100 ml Vital00, cuyo contenido se proporciona en la tabla II.

Tabla II. Ingredientes de Vital00, que es la base para Vital01, una composición nutritiva de la presente invención. Las cantidades enumeradas indican porcentajes en peso/volumen que cuando se dispersaron hasta un volumen total de 100 ml en agua, representa 1/6 de la porción diaria típica para el tratamiento de la malnutrición.

Ingrediente	**% (p/v)**
Proteína total Proteína caseína (6 %) Proteína de lactosuero (4 %)	10 %
Carbohidratos (maltodextrina y azúcares)	21,30 %
Grasas/aceite	7,50 %
Aminoácidos esenciales valina (total de libre y unida) isoleucina (total de libre y unida) leucina (total de libre y unida)	 0,80 % 0,80 % 2,00 %
Sal y minerales (fosfato de potasio, citrato de sodio, cloruro de potasio, hidróxido de potasio, cloruro de sodio, citrato de magnesio, cloruro de magnesio, pirofosfato férrico, cloruro de calcio, sulfato de zinc, selenito de sodio, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, fluoruro de sodio, cloruro de cromo, molibdato de sodio, yoduro de potasio)	0,64 %
Vitaminas (vitamina C, vitamina E, vitamina A, vitamina B3, vitamina D, ácido pantoténico, vitamina K1, vitamina B1, vitamina B6, vitamina B2, ácido fólico anhidro, biotina, vitamina B12).	0,07 %

Emulsionante y aroma	0,20 %

Durante la fase de aumento de peso, los animales se controlaron diariamente mediante EchoMRI (que se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante, EchoMRI LLC, Houston, EE. UU.). El peso corporal y la ingesta de alimento, así como la ingesta de los productos de aumento de peso, se determinaron diariamente. Tras el sacrificio, se recogieron los músculos (gastrocnemio, cuádriceps, tibial y sóleo) de ambas extremidades posteriores y se determinaron los pesos musculares. Después de pesar los músculos de las dos extremidades posteriores, la derecha y la izquierda, se fijó un músculo gastrocnemio, un cuádriceps, un tibial y un sóleo en formaldehído y se incluyó en parafina (con fines de histología). El músculo gastrocnemio, cuádriceps, tibial y sóleo de la otra para trasera se congeló de manera ultrarrápida y se almacenó a -80 °C para futuros análisis de ARN. También se aisló el hígado, se pesó y se almacenó a -80 °C. Se recogió plasma por punción cardiaca. Todos los procedimientos fueron convencionales, de acuerdo con protocolos y directrices que se aprobaron previamente por el Comité de ética sobre animales y se realizaron usando metodología general conocida por los expertos en la materia.

En resumen, el experimento se realizó de la siguiente manera: en el periodo de privación, los ratones macho adultos se mantuvieron con un 60 % de una dieta de comida regular (basada en la ingesta de un 100 % en las dos semanas previas al día t = 0), hasta que su peso corporal promedio decreció aproximadamente un 25 %. En la siguiente fase de realimentación, los ratones se estratificaron en tres grupos de 10, y las dietas de comida al 60 % se complementaron con comida convencional, Nutridrink CP o con Vital01 de acuerdo con el siguiente cálculo: Para el grupo de control, los ratones se alimentaron con comida convencional hasta un 100 % de una dieta para ratones normal (que es de aproximadamente 5 g/día). Por tanto, se proporcionó un 40 % (en general aproximadamente 2 g) de comida adicional a los ratones en el grupo de control 3. El número de calorías en 2 g de comida se usó para calcular una cantidad isocalórica de Nutridrink CP, que contenía 0,47 g de proteína y esta misma cantidad de proteína se proporcionó a animales en el último grupo mediante complementación de Vital01. La tabla III resume las cantidades y valores nutricionales de los diversos grupos. Dadas las diferentes formulaciones de Nutridrink CP y Vital01, está claro que, cuando la cantidad de proteína se normaliza, el valor de la energía en kcal difiere entre el alimento tomado por el grupo que recibe Nutridrink CP y los grupos que reciben Vital01. La elección para normalizar el contenido de proteína se basó en el hecho de que el objetivo principal de este experimento era comparar los efectos del ácido ursólico y las diferentes relaciones de caseína/lactosuero de Nutridrink CP y Vital01 sobre el aumento de peso, y en particular el aumento de masa muscular que es principalmente un resultado de la captación y síntesis de proteínas y no la acumulación de grasas o aporte energético.

Tabla III. Comparación de las características nutricionales de las dietas proporcionadas a los grupos experimentales

Valores por	**Comida al 60 %**	**Comida al 100 %**	**Comida al 60 % + Nutridrink CP**	**Comida al 60 % +Vital01**
Energía (kcal)	11,664	19,44	19,44	21,46
Grasa (g)	0,099	0,165	0,40	0,45
Carbohidratos (g)	1,635	2,725	2,43	2,64
Proteína (g)	0,57	0,95	**1,04**	**1,04**

Resultados

El efecto de la restricción de alimentos a lo largo del tiempo se muestra en la fig. 2. Los ratones en los grupos 3-6 se mantuvieron con una dieta de un 60 % de kcal en comparación con las dos semanas precedentes al periodo de restricción de alimentos y perdieron de promedio 5-6 gramos en el peso corporal total (-23 %). Tras la realimentación de acuerdo con las pautas analizadas anteriormente, los ratones empezaron a aumentar de peso casi instantáneamente, véase la fig. 3. El grupo de control 4 que recibió su dieta normal del 100 % de kcal como antes del periodo de privación aumentó de peso de manera relativamente lenta. Inesperadamente, los animales del grupo que recibían Vital01 (grupo 6), presentaron un aumento muy rápido en el peso corporal total que fue significativamente mayor que el grupo que recibió Nutridrink CP (grupo 5). Que el aumento en el peso corporal total no se debía únicamente al aumento en (por ejemplo) la acumulación de grasa (ya que se proporcionó ligeramente más kcal en los grupos de Vital) puede observarse en la fig. 4 que muestra el aumento en la masa corporal magra, en el que también el grupo de Vital01 mostró un aumento más rápido que el grupo de Nutridrink CP y el de control (que presentaba un aumento comparable en la masa corporal magra). Se concluye que la composición Vital01 provocaba un aumento más rápido significativo en el peso corporal total, así como en la masa corporal magra en sujetos mamíferos que padecían peso corporal disminuido después de dos semanas de privación con una dieta de un 60 % de kcal. Debido al aumento sorprendentemente rápido en el peso corporal observado para el grupo de Vital01, el estudio se finalizó antes de lo previsto sacrificando los animales ya en el día 6 de la fase de realimentación.

Para dilucidar adicionalmente los efectos de la composición Vital01 sobre músculos específicos, se determinó el peso de 4 músculos diferentes al final del experimento y se comparó con los grupos de control respectivos. La fig. 5 muestra el peso del músculo cuádriceps en el momento del sacrificio. Aunque en el periodo relativamente corto de realimentación, el peso del cuádriceps no alcanzaba los valores iniciales determinados en el grupo de referencia

(grupo 1), todos los grupos que recibieron realimentación fortalecieron claramente el músculo cuádriceps en comparación con los animales no realimentados del grupo 3. Además, muestra que el grupo de Vital01 alcanzó una masa de cuádriceps que era mayor que la del grupo de control 4 (comida al 100 % de kcal) y el grupo 5 (Nutridrink CP). La fig. 6 muestra el aumento en la masa del gastrocnemio. De nuevo, la realimentación con la composición Vital01 provocó un aumento mayor en la masa de este músculo particular. De forma importante, los grupo de ratones eran relativamente pequeños, pero el aumento obtenido con Vital01 (grupo 6, barra derecha) parecía estadísticamente significativo sobre el aumento observado con Nutridrink CP (4.ª barra), que muestra que la composición proteínica de la formulación Vital01 podría ser más beneficiosa en el tratamiento de atrofia muscular que la composición proteínica presente en Nutridrink CP. Además, sugiere fuertemente que el ácido ursólico que se añade a la composición Vital01 contribuye beneficiosamente al aumento de masa muscular, especialmente cuando se observa la masa del gastrocnemio. La fig. 7 muestra que no se observaba diferencia significativa en la masa del músculo sóleo entre todos los grupos de realimentación. De forma importante, este músculo no sufrió tanta atrofia como los músculos cuádriceps y gastrocnemio (fig. 5 y 6 respectivamente). Mientras que la disminución en la masa del sóleo fue significativa tras la privación, todas las pautas de realimentación produjeron una masa más o menos normal. la fig. 8 muestra la masa del tibial, y similar al músculo sóleo, el tibial muestra una atrofia relativamente moderada tras la privación en comparación con los músculos cuádriceps y gastrocnemio. Aun así, parece que la realimentación con la composición Vital01 produjo una masa del tibial más o menos normal, mientras que tanto el grupo de control con comida al 100 % de kcal (grupo 4) como Nutridrink CP (grupo 5) se quedaron rezagados. A causa de esto, no pudo excluirse que el aumento en el peso corporal total fuera atribuible a un aumento en el tamaño del hígado, la masa del hígado también se abordó para todos los grupos experimentales. La fig. 9 muestra que no se observaba diferencia entre los diferentes grupos realimentados, aunque hubo una clara disminución en la masa del hígado tras la privación (grupo 3 (segunda barra) en comparación con el grupo 1 (primera barra)) que se invirtió en todos los grupos de realimentación.

Nutridrink CP y Vital01 se proporcionaron ambas como formulaciones líquidas que, debido a los bajos volúmenes y derrame, no podían administraron a los ratones en los frascos normales de beber. Para este fin, y supervisar de forma precisa y controlar la ingesta de productos de ensayo, tanto Nutridrink CP como Vital01 se "gelificaron" mediante la adición de la hidroxipropilmetilcelulosa no metabolizable para formar un gel semisólido que pudiera suministrarse fácilmente a los animales en una placa de Petri. El volumen diario de Nutridrink CP y Vital01 gelificado que los ratones recibían fue 3,3 ml de Nutridrink CP o 4,9 ml de Vital01. La comida al 100 % corresponde a aproximadamente 5 g de peso seco y a los ratones en todos los grupos se proporciona agua *ad lib*. Los valores estadísticos de las diferencias entre los grupos en el peso corporal total y en el peso muscular se calcularon en SPSS usando un ensayo de Kruskall-Wallis no paramétrico seguido de Mann-Whitney. Los valores de p para la comparación del peso corporal (n = 10) entre los grupos en día 0 (inicio del protocolo de realimentación) hasta el día 6 (sacrificio) se dan en la fig. 10. Se destaca aquí que un pequeño valor de p (< 0,05) significa que las diferencias en el peso corporal que se midieron probablemente no se debían a muestreo aleatorio. Se emplearon los mismos métodos estadísticos para las mediciones de masa muscular en todos los grupos. Debe apreciarse que el aumento en la masa muscular de los ratones tratados con Vital01 es significativo sobre los valores encontrados con Nutridrink CP (indicados en la fig. 11 por un asterisco).

En conclusión, se mantiene que, cuando los sujetos mamíferos (en este experimento ratones macho normales) padecen atrofia muscular tras malnutrición, incluso hasta un nivel en que el peso corporal total se disminuye hasta aproximadamente un 75 % de su peso normal, esto puede invertirse por realimentación con una dieta normal y con formulaciones nutrición médica conocidas en la técnica, pero que la composición nutritiva de la presente invención pudo permitir que los sujetos volvieran a aumentar de peso mucho más rápido que las formulaciones de la técnica conocida. El peso corporal total y músculos como el tibial estuvieron en su peso normal de nuevo ya en una semana de realimentación con las composiciones de la presente invención mientras que este no fue el caso cuando se administró pienso normal para animales o composiciones de la técnica anterior. Además, parece haber un efecto beneficioso del ácido ursólico en las composiciones de la presente invención en al menos algunos músculos (tales como el cuádriceps y el gastrocnemio).

Ejemplo 2. Determinación de ácido ursólico en plasma después de realimentación.

Se sabe en la técnica que el ácido ursólico tiene una biodisponibilidad extremadamente baja. Por ejemplo, un estudio que investigaba la captación intestinal de ácido ursólico (de un extracto etanólico de *Sambucus chinensis*) encontró que una dosis de 80 mg/kg de peso corporal de ácido ursólico tenía una biodisponibilidad oral de solamente un 0,6 % (Liao Q, et al., 2005, LC-MS determination and pharmacokinetic studies of ursolic acid in rat plasma after administration of the traditional chinese medicinal preparation Lu-Ying extract. Yakugaku Zasshi 125(6):509-515). Otros han sido incapaces de detectar el ácido ursólico en la sangre o los tejidos tras administración oral, a pesar de observar claras respuestas fisiológicas o farmacológicas al ácido ursólico. Esto puede haberse debido a la baja biodisponibilidad y/o por la ausencia de métodos sensibles para medir los niveles de ácido ursólico *in situ*.

Para confirmar que el ácido ursólico se estaba captando realmente en el contexto de Vital01, se desarrolló un método analítico muy sensible para medir el ácido ursólico en los pequeños volúmenes de plasma que se obtuvieron

de los animales sacrificados en el experimento de aumento de peso. Para esto, se usó una UPLC-MS muy sensible, esencialmente como se describe por Xia et al., (Quantitation of ursolic acid in human plasma by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic study. J Chromatography 2011 879(2):219-224), aunque con modificaciones significativas para posibilitar el análisis de muestras de pequeño volumen de plasma de ratón o de ser humano. Como se ha descrito que la conversión del ácido ursólico en su isómero ácido oleanólico se produce en estudios en animales, el método se modificó adicionalmente para medir simultáneamente tanto el ácido ursólico como el ácido oleanólico.

Resultados

Se implementaron las siguientes modificaciones al método de UPLC-MS publicado por Xia et al., (2011) y se validaron para posibilitar el análisis simultáneo de ácido ursólico y ácido oleanólico en pequeños volúmenes de plasma, garantizando al mismo tiempo una alta especificidad y sensibilidad del método:

- Para aumentar la disolución de ácido ursólico, se complementó acetonitrilo con metanol al 50 % en la fase móvil y se prepararon soluciones madre en metanol en lugar de acetonitrilo;
- Como las inyecciones iniciales mostraban efecto residual, se añadió una gota de amoniaco;
- Para mejorar la resolución entre el ácido ursólico y el ácido oleanólico, la columna C8 como se describe por Xia et al., (2011) se remplazó por una columna C18 (Waters Acquity BEH C18 50 x 2,1 mm, 1,7 µm);
- Los volúmenes para la preparación de muestras se redujeron usando acetato de etilo para la extracción y la evaporación;
- La temperatura de la columna se optimizó y cambió de 30 a 40 °C;
- El volumen de reconstitución se cambió de 200 µl a 100 µl.

Usando los ajustes optimizados para cromatografía, detección por EM y preparación de muestras, se desarrolló un método que posibilitó mediciones simultáneas de ácido ursólico y ácido oleanólico en menos de 30 µl de plasma con un intervalo de cuantificación de 5-5000 ng/ml. El método optimizado entonces se usó para analizar 20 µl de muestras de plasma en EDTA plasma de animales de los grupos 4, 5 y 6 que se recogieron durante el sacrificio después de 6 días de realimentación y se almacenaron a -80 °C hasta el análisis. No pudo detectarse ácido ursólico (detección < LOD, que fue 4,94 ng/ml) en muestras de plasma derivadas de animales realimentados con comida al 100 % (grupo 4) o de animales realimentados con Nutridrink CP (grupo 5). Sin embargo, fue fácilmente detectable el ácido ursólico en muestras de plasma recogidas de animales realimentados con Vital01 (grupo 6), con una concentración promedio de 76,6 ± 8,8 ng/ml. Dado que los animales (en todos los grupos) habían acabado todo su alimento en la mañana, y que se sacrificaron por la tarde sin alimentación intermitente, se sugiere que la formulación de ácido ursólico en Vital01 aumenta significativamente su biodisponibilidad. Esto puede haberse facilitado por la solubilización aumentada del ácido ursólico a través de las grasas y los lípidos que están presentes en la composición de la presente invención y/o posiblemente por la formación de complejos con proteínas o aminoácidos en Vital01 para facilitar y potenciar su transporte a través de la pared intestinal.

Ejemplo 3. Ensayo clínico en sujetos humanos ancianos.

Fundamento: La predominancia de la malnutrición en Países Bajos está muy por encima de un 20 % entre personas con edad de 75 o mayores. La malnutrición afecta de manera significativa y negativa a los parámetros clínicos tales como el peso corporal, la curación de heridas, el rendimiento físico reducido, letargo y depresión, función inmunitaria alterada y complicaciones secundarias. Uno de los efectos directos principales de la malnutrición relacionada con enfermedad es la pérdida muscular que altera la función, movilidad e independencia. La malnutrición puede detectarse por un bajo peso corporal y por pérdida de peso involuntaria, pero también por atrofia del tejido muscular que da lugar a fuerza reducida y, por tanto, movilidad alterada. En adultos ancianos, la pérdida progresiva relacionada con la edad de la masa y fuerza del músculo esquelético (sarcopenia), da lugar a la pérdida de capacidad funcional y a un riesgo aumentado de desarrollar enfermedad metabólica crónica. Mejorar el estado nutricional de los pacientes dará lugar a un mejor estado físico que es muy relevante para una recuperación más rápida de la enfermedad subyacente.

Objetivo: Se realiza un estudio para investigar el impacto de la composición de complementación nutricional oral (Vital02) de la presente invención, principalmente sobre el peso corporal y la masa corporal magra y en segundo lugar sobre el rendimiento físico, la salud muscular y la función inmunitaria en personas ancianas malnutridas frente a un complemento nutritivo (ONS) que es el tratamiento de referencia en Países Bajos para el tratamiento de la malnutrición.

Diseño del estudio: Durante un periodo de 12 semanas, se ejecuta un ensayo de intervención aleatorizado y controlado con 2 tratamiento en paralelo: Tratamiento 1: Vital02 (n = 40), 2 raciones de Vital02 (600 kcal); Tratamiento 2 (referencia): ONS (n = 40), 2 raciones de un alimento convencional con fines médicos (600 kcal).

Población del estudio: Sujetos ancianos (≥ 65 años) con malnutrición o riesgo de malnutrición evaluado por la MNA (minievaluación nutricional).

Parámetros/criterios de valoración principales del estudio: El interés principal es en la media de las diferencias en el cambio de peso corporal (kg) y la masa corporal magra (kg) entre el tratamiento 1 frente al tratamiento 2. Además, se evalúa el rendimiento físico, la salud muscular y la función inmunitaria.

Vital02 comprende 465,02 kcal por 100 g de composición en polvo. La tabla IV da la composición del polvo Vital02, que se usa para la preparación de una composición líquida administrada a los sujetos. La tabla V da el contenido total de aminoácidos de Vital02, para los que puede obtenerse el porcentaje de isoleucina, valina y leucina del contenido total de aminoácidos.

Tabla IV. Ingredientes de Vital02 en polvo.

	% p/p
Grasa	18,43
Carbohidratos	51,48
Fibra	0,04
Proteína	22,92
Sal	0,39
Ácido ursólico	0,1634612
Minerales	
Calcio	0,1931613
Cromo	0,0000222
Cloro	0,1815838
Fósforo	0,1016971
Hierro	0,0051262
Yodo	0,0000396
Potasio	0,2970668
Cobre	0,000542
Magnesio	0,0520789
Manganeso	0,0009577
Molibdeno	0,000025
Sodio	0,156773
Selenio	0,000025
Zinc	0,0034443
Vitaminas	
Vitamina B1 (tiamina)	0,0004969
Vitamina B2 (riboflavina)	0,000651
Vitamina B3 (niacina)	0,0068566
Vitamina B5 (pantotenato)	0,0015751
Vitamina B6 (piridoxina)	0,0005338
Vitamina B9/B11 (ácido fólico)	0,0001322
Vitamina B12 (cobalamina)	8,987E-07
Vitamina C (ácido ascórbico)	0,0315036
Vitamina D3 (colecalciferol)	0,0000086
Vitamina E (tocoferol)	0,0013929
Vitamina B7 (biotina)	0,0000092
Vitamina K1 (filoquinona)	0,0000157
Vitamina A (retinol)	0,0000291
Colina	0,1111477
Aminoácidos esenciales	
L-valina	1,050346
L-leucina	1,087395
L-isoleucina	3,2

Tabla V. Contenido total de aminoácidos de Vital02

Aminoácidos	**% p/p**
L-valina	2,0717
L-leucina	4,8057
L-isoleucina	2,0312
L-alanina	0,635

L-arginina	0,449
L-acido aspártico	1,4342
L-cisteína	0,2086
L-acido glutámico	3,0979
Glicina	0,2491
L-lisina	1,3985
L-histidina	0,3717
L-metionina	0,3953
L-fenilalanina	0,6393
L-prolina	1,2106
L-serina	0,8338
L-treonina	0,883
L-triptófano	0,2135
L-tirosina	0,6329

REIVINDICACIONES

1. Una composición nutritiva líquida o semilíquida que comprende:

de 70 a 200 mg/ml de proteínas lácteas;
de 30 a 60 ng/ml de vitamina D o un derivado de la misma; y
0,2 a 1 mg/ml de ácido ursólico;
en la que la relación de caseína:lactosuero en dichas proteínas lácteas varía de 20:80 a 80:20 y en la que de un 30 a un 45 % del contenido de aminoácidos total es una mezcla de leucina, isoleucina y valina.

2. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la concentración de proteínas lácteas es de aproximadamente 75 a aproximadamente 180 mg/ml, tal como de aproximadamente 80 a aproximadamente 160 mg/ml, de aproximadamente 85 a aproximadamente 140 mg/ml, de aproximadamente 90 a aproximadamente 130 mg/ml, de aproximadamente 95 a aproximadamente 125 mg/ml, de aproximadamente 100 a aproximadamente 120 mg/ml.

3. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en la que la concentración de vitamina D o un derivado de la misma es de aproximadamente 32 a aproximadamente 55 ng/ml, de aproximadamente 35 a aproximadamente 45 ng/ml.

4. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que la concentración de ácido ursólico es de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 0,95 mg/ml, tal como de aproximadamente 0,3 a aproximadamente 0,9 mg/ml o de aproximadamente 0,35 a aproximadamente 0,85 mg/ml.

5. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que la relación de caseína:lactosuero es de aproximadamente 30:70 a aproximadamente 70:30, tal como de aproximadamente 40:60 a aproximadamente 68:32, de aproximadamente 45:55 a aproximadamente 65:35.

6. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende valina e isoleucina en una concentración de un 7 a un 10 % del contenido total de aminoácidos y leucina en una concentración de un 16 a un 25 % del contenido total de aminoácidos, y en la que la valina, isoleucina y leucina están presentes en forma libre y en forma unida.

7. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que comprende de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 3 kcal/ml tal como de aproximadamente 1,8 a aproximadamente 2,7 kcal/ml o de aproximadamente 2 a aproximadamente 2,5 kcal/ml

8. Una composición nutritiva que comprende por 100 kcal:

de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 8,5 gramos de proteínas lácteas;
de aproximadamente 1,2 a aproximadamente 3,0 µg de vitamina D o un derivado de la misma; y
de aproximadamente 8 a aproximadamente 50 mg de ácido ursólico;
en la que la relación de caseína:lactosuero en dichas proteínas lácteas es de 20:80 a 80:20 y en la que de un 30 a un 45 % del contenido de aminoácidos total es una mezcla de leucina, isoleucina y valina.

9. Una composición nutritiva de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la cantidad de ácido ursólico es de aproximadamente 15 a aproximadamente 48, tal como, de aproximadamente 20 a aproximadamente 46, de aproximadamente 25 a aproximadamente 44, de aproximadamente 30 a aproximadamente 40 o aproximadamente 35 mg por 100 kcal de la composición.

10. Una composición nutritiva de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 y 9, en la composición es un polvo.

11. Una composición nutritiva líquida o semilíquida de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 o una composición nutritiva de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-10, para su uso en el tratamiento de un paciente que padece malnutrición, pérdida de peso y/o atrofia muscular.

Fig. 1

Días de tratamiento	0	1	3	5	7	9	10	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	→	e.o.s.
1) Medida inicial (n=5)		x																		
2) Grupo de referencia de comida (n=5)																				x
3) Grupo de atrofia muscular (n=10)									x											
4) Control (n=10) Comida al 100 %		Fase de privación							Fase de realimentación											x
5) Nutridrink Compact Protein (n=10)																				x
6) Vital01 (n=10)																				x
Suministro diario de pienso y bebida	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Peso corporal e ingesta de alimento	x		x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
EchoMRI	x		x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Sacrificio: recogida de sangre y órganos		x							x											x

Fig. 2

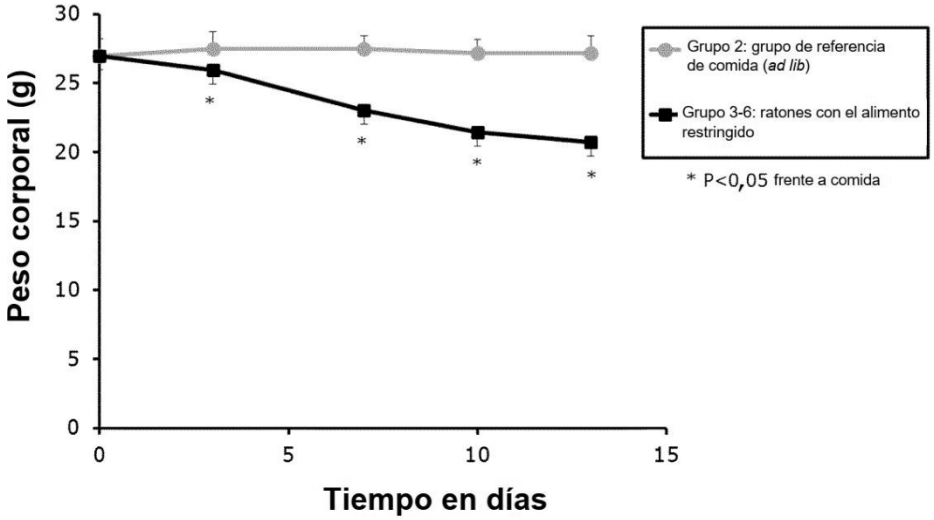

Fig. 3

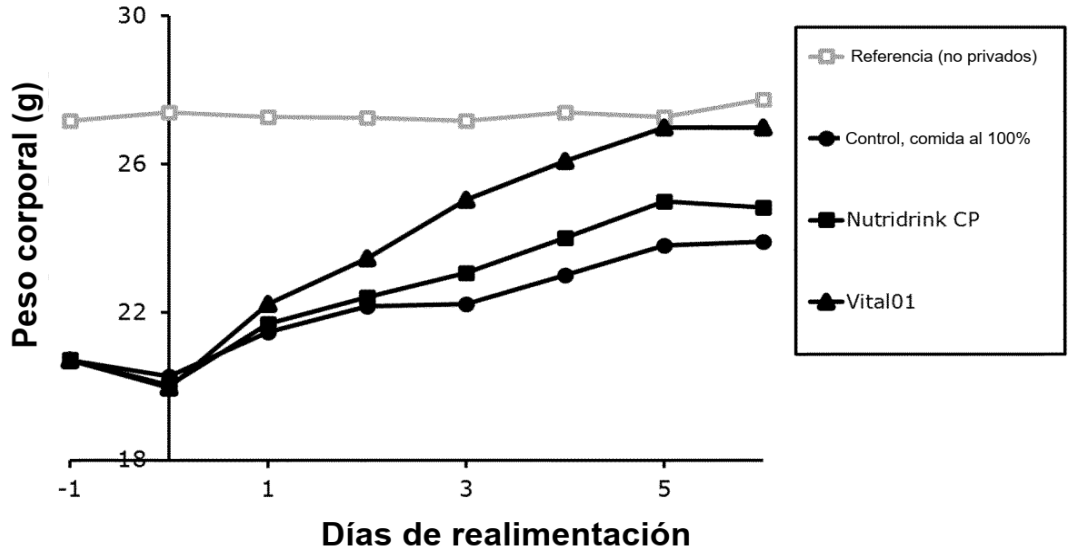
30
26
22
18
Peso corporal (g)
-1
1
3
5
Días de realimentación
Referencia (no privados)
Control, comida al 100%
Nutridrink CP
Vital01

Fig. 4

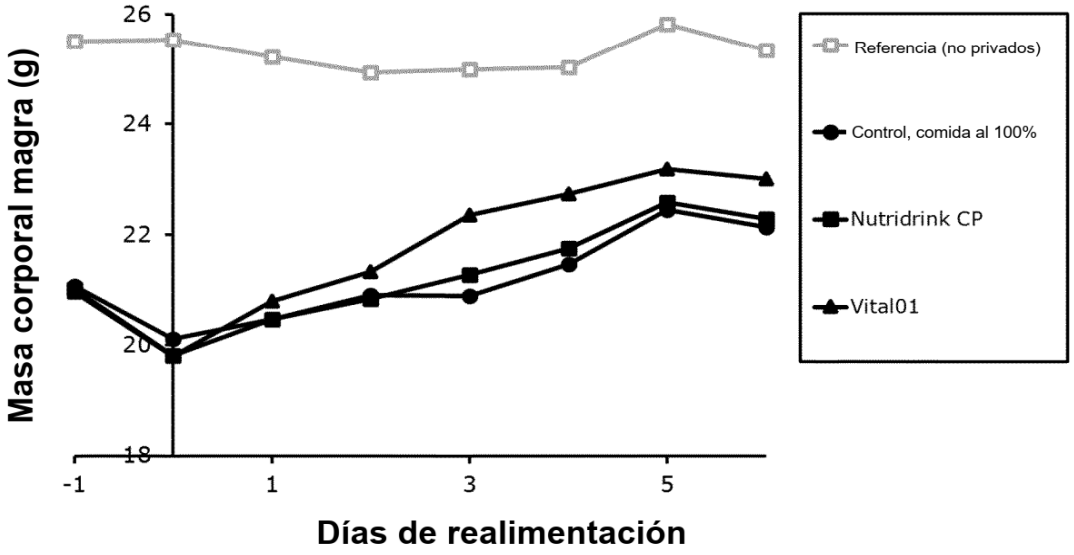
26
24
22
20
18
Masa corporal magra (g)
-1
1
3
5
Días de realimentación
Referencia (no privados)
Control, comida al 100%
Nutridrink CP
Vital01

Fig. 5

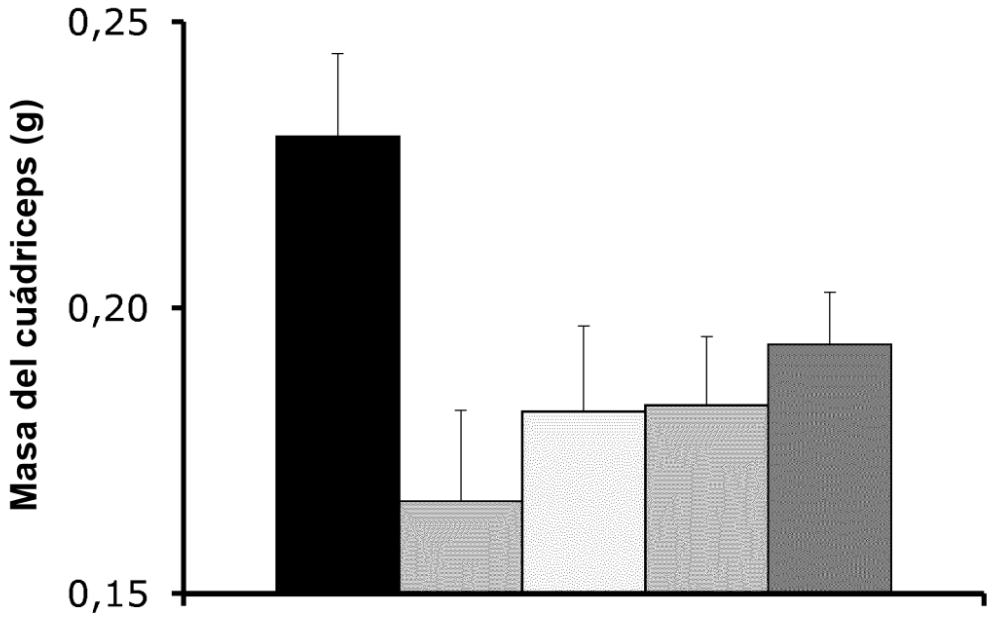
0,25
0,20
0,15
Masa del cuádriceps (g)

Fig. 6

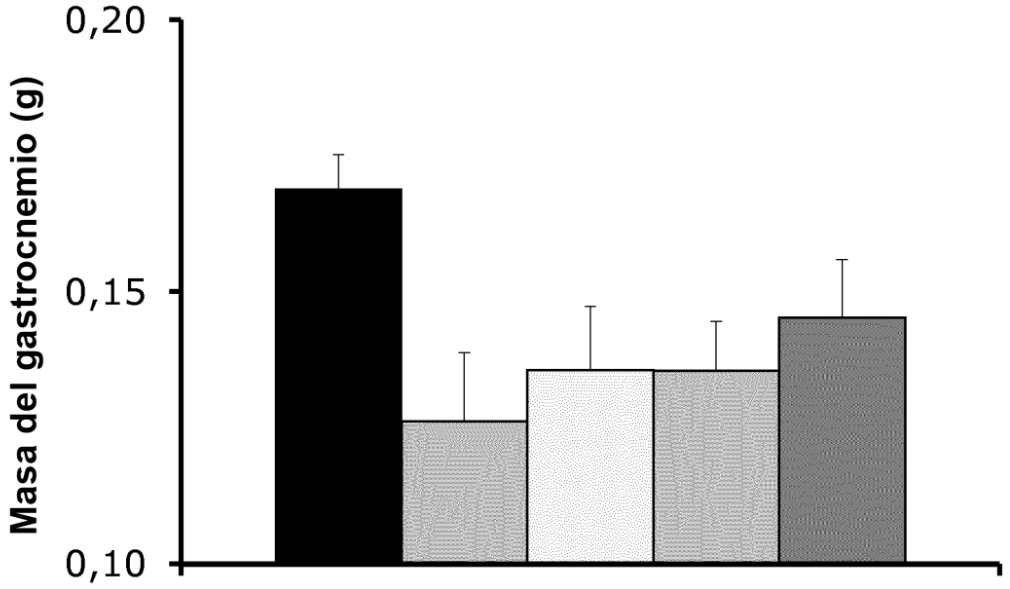
0,20
0,15
0,10
Masa del gastrocnemio (g)

Fig. 7

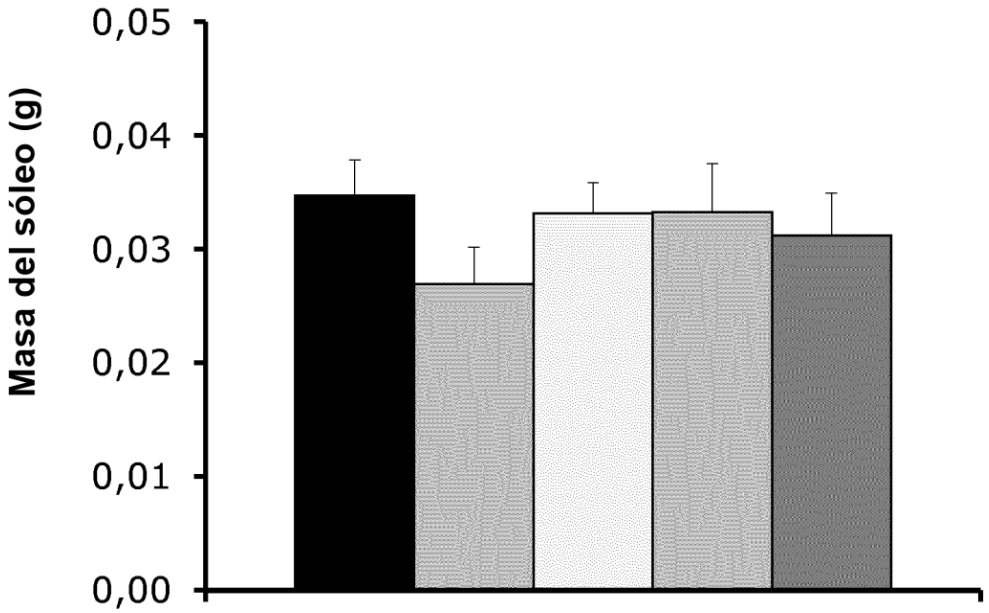
Masa del sóleo (g)
0,05
0,04
0,03
0,02
0,01
0,00

Fig. 8

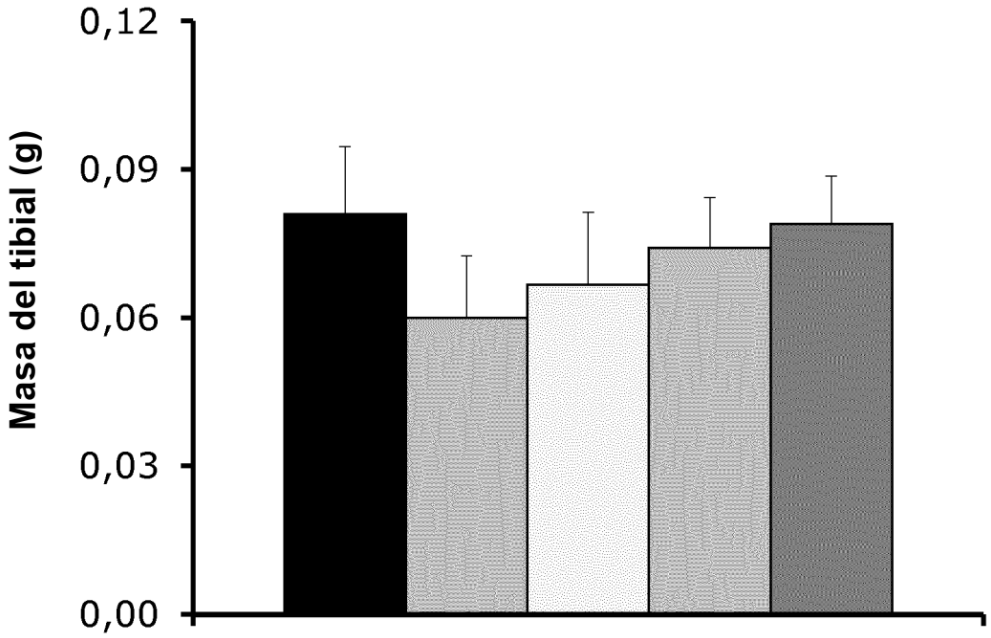
Masa del tibial (g)
0,12
0,09
0,06
0,03
0,00

Fig. 9

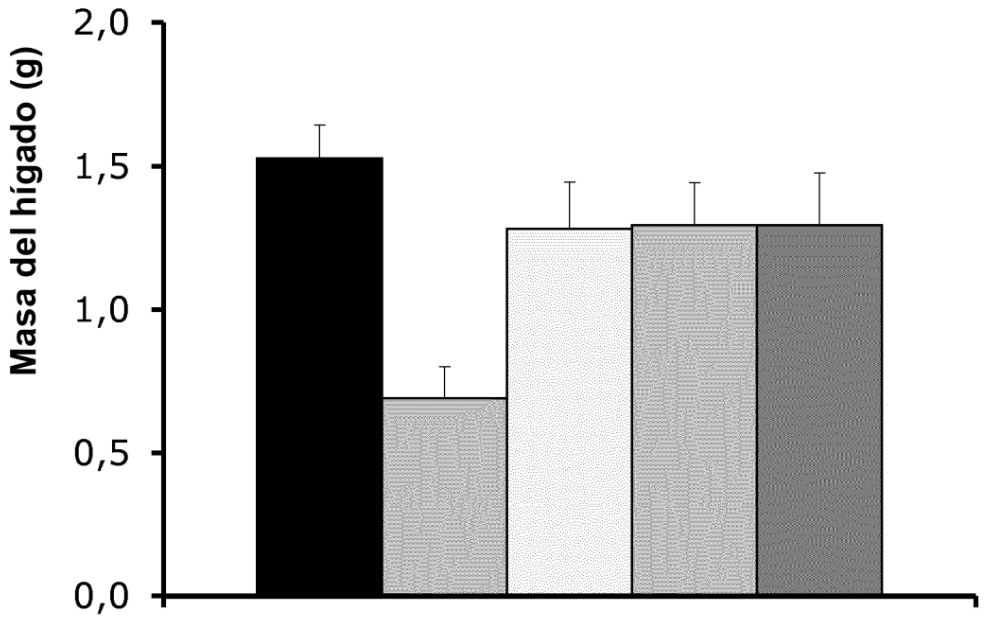

Fig. 10

Peso corporal: Valor de p		t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	t=5	t=6
Referencia de comida frente a (No privados)	Control, comida al 100 %	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Nutridrink	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,003**	**0,013**	**0,005**
	Vital01	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,019**	0,206	0,859	0,513
Control, comida al 100 % frente a:	Nutridrink	0,529	0,971	0,912	0,353	0,247	0,190	0,315
	Vital01	0,481	0,315	0,143	**0,002**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
Nutridrink vs:	Vital01	0,912	0,481	0,143	**0,019**	**0,023**	**0,009**	**0,011**

Fig. 11

Peso del tejido: valor de p		Cuádriceps			Gastrocnemio		
		Izquierdo (g)	Derecho (g)	Promedio (g)	Izquierdo (g)	Derecho (g)	Promedio (g)
Medida inicial de comida frente a: (Antes de la fase de privación)	Referencia de comida	0,841	0,151	0,421	**0,032**	0,841	0,222
	Grupo de atrofia muscular	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Control, comida al 100 %	**0,003**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Nutridrink	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Vital01	**0,005**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,008**	**0,003**
Referencia de comida frente a: (No privados)	Grupo de atrofia muscular	**0,001**	**0,003**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Control, comida al 100 %	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Nutridrink	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,001**
	Vital01	**0,001**	**0,001**	**0,001**	**0,013**	**0,005**	**0,003**
Grupo de atrofia muscular frente a:	Control, comida al 100 %	**0,005**	0,123	**0,023**	0,063	0,089	0,089
	Nutridrink	**0,007**	**0,029**	**0,009**	0,052	0,165	0,075
	Vital01	**<0,001**	**0,011**	**<0,001**	**0,019**	**0,002**	**0,004**
Control, comida al 100 %	Nutridrink	0,684	0,393	0,912	0,739	0,912	0,739
	Vital01	0,123	0,063	**0,043**	0,280	**0,023**	0,105
Nutridrink frente a	Vital01	**0,015***	0,143	0,075	0,190	**0,007***	**0,043***

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del gran cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patentes citados en la descripción

- US 2015164833 A1 **[0006]**
- WO 2014055905 A **[0008]**
- WO 2014099904 A1 **[0009]**
- US 20060035824 A1 **[0026]**
- WO 2012170546 A **[0027]**
- US 8021701 B **[0027]**

Literatura diferente de patentes citada en la descripción

- **STRATTON RJ et al.** Disease-related malnutrition: an evidence based approach to treatment. CABI Publishing, 2003 **[0002] [0003]**
- **LJUNGQVIST O et al.** The European fight against malnutrition. *Clin. Nutr,* 2010, vol. 29, 149-150 **[0002]**
- Combating malnutrition: recommendations for action. **ELIA M.; RUSSELL C.** Report from the Group on Malnutrition. Led by British Association of Parenteral and Enteral Nutrition, BAPEN, 2009 **[0002]**
- **GREEN CJ.** Existence, causes and consequences of disease-related malnutrition in the hospital and the community, and clinical and financial benefits of nutrition intervention. *Clin Nutr,* 1999, vol. 18, 3-28 **[0003]**
- **KUNKEL et al.** *Cell Metabolism,* 2011, vol. 13, 627-638 **[0007]**
- **KUNKEL SD et al.** mRNA expression signatures of human skeletal muscle atrophy identify a natural compound that increases muscle mass. *Cell Metab,* 2011, vol. 13 (6), 627-638 **[0027]**
- **GALLARDO CM. et al.** Behavioral and neural correlates of acute and scheduled hunger in C57BL/6 mice. *Plos One,* 2014, vol. 9 (5), 1-12 **[0048]**
- **WILLIAMS TD. et al.** Cardiovascular responses to caloric restriction and thermoneutrality in C57BL/6J mice. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol,* 2002, vol. 282, R1459-R1467 **[0048]**
- **LIAO Q et al.** LC-MS determination and pharmacokinetic studies of ursolic acid in rat plasma after administration of the traditional chinese medicinal preparation Lu-Ying extract. *Yakugaku Zasshi,* 2005, vol. 125 (6), 509-515 **[0056]**
- **XIA et al.** Quantitation of ursolic acid in human plasma by ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry and its pharmacokinetic study. *J Chromatography,* 2011, vol. 879 (2), 219-224 **[0057]**