

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 785 686**

51 Int. Cl.:

**A23L 33/125** (2006.01)  
**A23L 33/135** (2006.01)  
**A23L 33/22** (2006.01)  
**A23L 2/52** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 31/702** (2006.01)  
**A61P 43/00** (2006.01)  
**A61K 35/744** (2015.01)  
**A61K 35/745** (2015.01)  
**A61K 35/747** (2015.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.06.2009 PCT/EP2009/057656**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.01.2010 WO10003803**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2009 E 09793909 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.03.2020 EP 2309876**

54 Título: **Composición nutritiva que contiene una mezcla de oligosacáridos**

30 Prioridad:

**08.07.2008 EP 08159900**

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

**07.10.2020**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**FICHOT, MARIE-CLAIRE;**  
**SPRENGER, NORBERT;**  
**MARTIN, FRANÇOIS-PIERRE;**  
**KOCHHAR, SUNIL y**  
**REZZI, SERGE**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

ES 2 785 686 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Composición nutritiva que contiene una mezcla de oligosacáridos

**5 Sector de la invención**

La presente invención, se refiere a una composición nutritiva tal como una fórmula infantil para lactantes o bebés, suplementada con una mezcla de oligosacáridos.

**10 Antecedentes de la invención**

El colon humano, se encuentra colonizado con una amplia gama de bacterias, las cuales poseen unos efectos tanto positivos como negativos en la fisiología intestinal, además de poseer, de una forma adicional, otras influencias sistémicas. Los grupos predominantes de bacterias los cuales se encuentran en el colon, incluyen a bacteroides, bifidobacterias, eubacterias, clostridios y lactobacilos. Las bacterias presentes, tienen unas actividades fluctuantes en respuesta a la disponibilidad del sustrato, el potencial redox, el valor pH, la tensión de O<sub>2</sub> y la distribución en el colon. De una forma general, las bacterias intestinales, se pueden dividir en especies que ejercen efectos potencialmente dañinos o beneficiosos sobre el huésped. Los efectos patogénicos (los cuales pueden ser causados por clostridios o bacteroides, por ejemplo), incluyen a la diarrea, las infecciones, el daño hepático, la carcinogénesis y la putrefacción intestinal. Los efectos que fomentan la salud, pueden ser causados por la inhibición del crecimiento de las bacterias dañinas, la estimulación de las funciones inmunes, la mejora de la digestión y la absorción de nutrientes esenciales y la síntesis de vitaminas. Es deseable un aumento en el número y las actividades de los grupos bacterianos (tales como las bifidobacterias y los lactobacilos), los cuales pueden tener unas propiedades estimulantes de la salud.

En cuanto a lo que respecta de una forma específica a los lactantes o bebés, inmediatamente antes del nacimiento, se cree que, el tracto gastrointestinal de un bebé es estéril. Durante el proceso de nacimiento, éste encuentra bacterias del tracto digestivo y de la piel de la madre y comienza a colonizarse. Existen grandes diferencias con respecto a la composición de la microbiota intestinal, como respuesta a la alimentación del lactante. La flora fecal de los lactantes alimentados con leche materna, incluye poblaciones apreciables de bifidobacterias con algunas especies de Lactobacillus, mientras que, los lactantes alimentados con fórmulas, tienen una microbiota más compleja, con bifidobacterias, bacteroides, clostridios y estreptococos generalmente presentes. Después del destete, se establece un patrón de microbiota intestinal, el cual se asemeja al patrón del adulto.

Una estrategia planteada para fomentar los números y / o las actividades de las bacterias beneficiosas en el colon, es el consistente en la adición de prebióticos a los alimentos. Un prebiótico, es un ingrediente alimenticio, no digerible el cual afecta de una forma beneficiosa al huésped, mediante la estimulación selectiva del crecimiento y / o la actividad de una o de un número limitado de bacterias en el colon, y así, por lo tanto, mejorar la salud del huésped. Tales tipos de ingredientes no son digeribles, en el sentido de que, éstos, no se descomponen ni se y absorben en el estómago o en el intestino delgado y, así, por lo tanto, éstos pasan intactos al colon, en donde éstos se fermentan, de una forma selectiva, mediante las bacterias beneficiosas. Los ejemplos de prebióticos incluyen a determinados oligosacáridos, tales como los fructooligosacáridos (FOS) y los galactooligosacáridos (GOS).

Es conocido el hecho de que, la leche humana, contiene una mayor cantidad de oligosacáridos no digeribles que la mayoría de las otras leches animales. De hecho, los oligosacáridos no digeribles, representan el tercer componente sólido más grande (después de la lactosa y de los lípidos) en la leche materna, la cual que se produce a una concentración de 12 - 15 g / l en el calostro y a una concentración de 5 - 8 g / l en la leche madura. Los oligosacáridos de la leche humana son muy resistentes a la hidrólisis enzimática, lo cual indica el hecho de que, estos oligosacáridos, pueden mostrar funciones esenciales, las cuales no se encuentran directamente relacionadas con su valor calorífico.

La leche materna se recomienda para todos los lactantes o bebés. No obstante, en algunos casos, la lactancia materna es inadecuada o no tiene éxito por razones médicas o por el hecho de que la madre elige no amamantar. Se han desarrollado fórmulas infantiles para estas situaciones. A medida que se ha venido comprendiendo mejor la composición de la leche humana, se ha propuesto, también, agregar prebióticos a la fórmula infantil. Así, por ejemplo, se encuentran comercialmente disponibles, en el mercado, varias fórmulas infantiles para lactantes o bebés, las cuales se encuentran suplementadas con prebióticos tales como, por ejemplo, mezclas de fructooligosacáridos y galactooligosacáridos. Sin embargo, no obstante, tales mezclas, sólo se aproximan mínimamente a la mezcla de oligosacáridos existente en la leche humana. Se han detectado más de 100 componentes de oligosacáridos diferentes en la leche humana, algunos de los cuales, no se han detectado, hasta ahora, en las leches animales tales como la leche bovina o bien, éstas se han detectado sólo en pequeñas cantidades.

La solicitud de patente de estadounidense US nº 2003 / 0 129 278 describe una mezcla de oligosacáridos basada en oligosacáridos producidos a partir de una o de varias leches animales, la cual se caracteriza por el hecho de que ésta comprende por lo menos dos fracciones de oligosacáridos, las cuales se encuentran compuestas, cada una de

ellas, por lo menos por dos oligosacáridos diferentes, con lactosa libre no perteneciente a éstos. El espectro total de los oligosacáridos los cuales se encuentran presentes en la mezcla de oligosacáridos difiere de los que se encuentran presentes en la leche animal o en las leches animales de las que se extrajeron las fracciones de oligosacáridos. De una forma adicional, a) si dichos oligosacáridos se extraen de una sola leche animal, entonces, la  
 5 proporción de oligosacáridos neutros con respecto a oligosacáridos ácidos (sialilados) es 90 - 60 : 10 -40 % en peso, o b) si dichos oligosacáridos se extraen de por lo menos dos leches animales, entonces, los oligosacáridos extraídos de dos leches animales diferentes, formarán, cada uno de ellos, un porcentaje de hasta un 10 %, en peso, de la cantidad total de oligosacáridos presentes en la mezcla de oligosacáridos.

10 El documento de patente internacional WO 2007 / 090 894 describe una mezcla de oligosacáridos, la cual comprende un porcentaje del 5 al 70 %, en peso, de por lo menos un oligosacárido N-acetilado, un porcentaje del 20 al 90 %, en peso, de por lo menos un galacto-oligosacárido neutro y un porcentaje del 5 al 50 %, en peso, de por lo menos un oligosacárido sialilado. El documento de patente internacional WO 2007 / 073 192, describe el uso de  
 15 galactooligosacáridos, en composiciones nutritivas, para la prevención de la obesidad en lactantes o bebés de una edad inferior a los 36 meses, y para la prevención de la obesidad, más tarde, durante el transcurso de la vida. De una forma adicional, los oligosacáridos N-acetilados y sialilados, se encuentran listados, como opciones, en largas listas.

20 La mayor parte del interés de la investigación se ha centrado en la fermentabilidad y la bifidogenicidad de los prebióticos de oligosacáridos. Sin embargo, no obstante, los estudios realizados in vitro, han demostrado el hecho de que, varios prebióticos de oligosacáridos, imitan a los receptores de la superficie celular eucariota a los que se adhieren las bacterias virulentas, como parte del proceso de patogenicidad (Shoaf et al, 2006). De una forma adicional, se ha descubierto el hecho de que, los trans-galacto-oligosacáridos, mejoran las capacidades protectoras del *Bifidobacterium breve*, en ratones infectados con *Salmonella* entérica (Asahara et al., 2001). También se han  
 25 investigado, así mismo, otros beneficios potenciales de los prebióticos, en adultos, incluidas las propiedades inmunomoduladoras, la mineralización ósea y los efectos cardiovasculares. Los estudios que se han llevado a cabo en neonatos y en lactantes o bebés, se han concentrado en las capacidades de los oligosacáridos para aumentar las poblaciones de bifidobacterias fecales. De una forma sorprendente, se han llevado a cabo pocos estudios sobre la prevención de enfermedades o los posibles beneficios del tratamiento, del uso de prebióticos en lactantes o bebés.

30 En los últimos años, la preocupación por el sobrepeso y la obesidad en la población adulta ha crecido sustancialmente, hasta el punto de que, la obesidad, es la condición nutritiva más onerosa y costosa en todo el mundo. Como resultado, comienza a centrarse la atención, en la importancia de los desarrollos durante la infancia, para el riesgo de obesidad, más adelante, en la vida, con una especial atención en la medida en la que el crecimiento durante la infancia puede ser un predictor de una adiposidad posterior. Algunos comentaristas creen que el aumento de peso, en los primeros seis meses de vida es, principalmente un aumento de grasa; si el aumento de peso en la infancia predice efectivamente la adiposidad posterior, de ello se deduce que, la ganancia de adiposidad, en la infancia, debe ser cuidadosamente supervisada y controlada, para reducir el riesgo de obesidad individual, posteriormente, durante el transcurso de la vida (Gilman M.W "The first months of life: a critical period for  
 35 development of obesity", - Los primeros años de vida: un período crítico para el desarrollo de la obesidad -, Am J Clin Nutr 2008: 1587- 9).

### Resumen de la invención

45 La invención, se define mediante las reivindicaciones. Los presentes inventores, han descubierto, de una forma sorprendente, el hecho de que, la administración de una mezcla de oligosacáridos prebióticos, la cual comprenda galacto-oligosacáridos con pequeñas cantidades de especies de oligosacáridos más complejos, tales como oligosacáridos sialilados y oligosacáridos no sialilados, los cuales incluyan por lo menos un grupo N-acetilo, a ratones exentos de gérmenes inoculados con una microbiota de un lactante o bebé humano, modula el metabolismo de los lípidos al reducir la lipogénesis y promover la beta-oxidación de los ácidos grasos, en comparación con un grupo de control que no reciba la mezcla de oligosacáridos.

50 Correspondientemente en concordancia, la presente invención, proporciona el uso de un oligosacárido N-acetilado, un galacto-oligosacárido y un oligosacárido sialilado, en la elaboración de una composición nutritiva para la administración a un lactante o bebé, en los primeros seis meses de vida, para reducir el riesgo de obesidad, posteriormente, más adelante, durante el transcurso de su vida.

55 La invención se extiende a una composición nutritiva para la administración a un lactante o bebé, cuya composición comprende, sobre una base de materia seca, un porcentaje del 2,5 a 15,0 %, en peso, de una mezcla de oligosacáridos la cual consiste en oligosacárido(s) N-acetilado(s), galactooligosacárido(s) y oligosacárido(s) sialilado(s), con la condición de que, la composición, comprenda un porcentajes de por lo menos 0,02 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, un porcentaje de por lo menos 2,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido y un porcentaje de por lo menos 0,04 %, en peso, de un oligosacárido sialilado y que, el (los) oligosacárido(s) N-acetilado(s), comprendan un porcentaje del 0,5 al 4,0 % de la mezcla de oligosacáridos, los galacto-oligosacáridos comprendan un porcentaje del 92,0 al 98.5 % de la mezcla de oligosacáridos, y los oligosacáridos sialilados, comprendan un porcentaje del 1,0 al 4,0 % de la mezcla de oligosacáridos.

Los beneficios de una composición nutritiva en concordancia con la invención, se extienden a la reducción de la lipogénesis y a una mayor beta-oxidación de los ácidos grasos.

- 5 En una forma de presentación, la mezcla de oligosacáridos, puede derivarse de leche animal, tal como de una o más de entre la leche de vaca, la leche de cabra o la leche de búfalo.

De una forma preferible, la composición nutritiva, es una fórmula infantil para lactantes o bebés, pero ésta puede ser cualquier producto alimenticio o bebida que consuman los lactantes o bebés, en los primeros meses de vida, incluida una composición nutritiva terapéutica, la cual cumpla con los requisitos de las reglamentaciones de la UE que rigen para los alimentos para fines médicos especiales (FSMP – [de sus siglas en idioma inglés, correspondientes a Foods for Special Medical Purposes] -).

#### Descripción resumida de los dibujos

15 La **Figura 1**, muestra una comparación de las concentraciones de triglicéridos en los hígados de ratones del grupo de control (n = 9) y ratones del grupo experimental (n = 10), las cuales se muestran mediante el uso de gráficos de caja y bigotes; y

20 La **Figura 2**, muestra una comparación de la expresión de la proteína de transferencia de triglicéridos microsomales (MTTP) y la sintasa de ácido graso (FAS) en los hígados de ratones del grupo de control (n = 9) y del grupo experimental (n = 10), la cual se muestra mediante el uso de gráficos de caja y bigotes.

#### Descripción detallada de la invención

25 En la presente especificación, las siguientes expresiones, tienen los significados asignados a continuación:

"galacto-oligosacárido" significa un oligosacárido el cual comprende dos o más moléculas de galactosa que no tiene carga ni residuo de N-acetilo;

30 "lactante" o "bebé" significa un niño de una edad menor de 12 meses;

"fórmula infantil para lactantes o bebés" significa un producto alimenticio destinado a la nutrición completa de los lactantes o bebés, durante los primeros cuatro a seis meses de vida. (Artículo 1.2 de la Directiva 91/321 / CEE de la Comisión Europea, de 14 de mayo de 1991, sobre fórmulas infantiles para lactantes o bebés y para fórmulas de seguimiento para lactantes o bebés.

"oligosacárido N-acetilado", significa un oligosacárido el cual tiene un residuo N-acetilo;

40 "oligosacárido" significa un hidrato de carbono que tiene un grado de polimerización (DP - [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a degree o polymerization] -), el cual varía de 2 a 20 inclusive, pero que no incluye lactosa;

"prebiótico" significa un ingrediente fermentado selectivamente, el cual permite cambios específicos, en ambos, la composición y / o la actividad en la microbiota gastrointestinal, que confiere beneficios sobre el bienestar y la salud del huésped (Bouhnik et al, 2004);

"oligosacárido sialilado" significa un oligosacárido el cual tiene un residuo de ácido siálico con carga asociada.

50 Los oligosacáridos N-acetilados adecuados incluyen a los GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,6GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc. Los oligosacáridos N-acetilados pueden prepararse mediante la acción de la glucosaminidasa y / o la galactosaminidasa sobre la N-acetil-glucosa y / o la N-acetil galactosa. De igual modo, las N-acetil-galactosil transferasas y / o las N-acetil-glicosil transferasas pueden usarse para este propósito. Los oligosacáridos N-acetilados, también pueden producirse, así mismo, mediante tecnología de fermentación, usando las enzimas respectivas (recombinantes o naturales) y / o la fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales, o bien, éstos pueden manipularse para producir sustratos y enzimas respectivos. Se pueden usar cultivos microbianos individuales o cultivos mixtos. La formación de oligosacáridos N-acetilados puede iniciarse mediante sustratos aceptores a partir de cualquier grado de polimerización (DP) desde DP = 1 en adelante. Otra opción, es la conversión química de las cetohechosas (tal como, por ejemplo, la fructosa) libres o unidas a un oligosacárido (tal como por ejemplo, la Lactulosa) en N-acetilhexosamina o un oligosacárido el cual contenga N-acetilhexosamina, o tal como se describe en Wrodnigg, TM.; Stutz, AE (1999) Angew. Chem Int. Ed. 38: 827 - 828.

65 Los galactooligosacáridos adecuados incluyen a los Gal $\beta$ 31,6Gal, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc. Los galactooligosacáridos sintetizados tales como los Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc,

Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc, y sus mezclas, se encuentran comercialmente disponibles en el mercado, bajo las marcas comerciales Vivinal® y Elix'or®. Otros proveedores de oligosacáridos son Dextra Laboratories, Sigma-Aldrich Chemie GmbH y Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd. De una forma alternativa, se pueden usar glucosiltransferasas específicas, tales como las galactosiltransferasas, para producir oligosacáridos neutros.

Los oligosacáridos sialilados adecuados, incluyen a los NeuAc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc y NeuAc $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4Glc. Estos oligosacáridos sialilados pueden aislarse mediante tecnología cromatográfica o de filtración, a partir de una fuente natural tal como las leches animales. De una forma alternativa, también pueden producirse por biotecnología utilizando sialiltransferasas específicas, bien ya sea por tecnología de fermentación basada en enzimas (enzimas recombinantes o naturales) o bien ya sea por tecnología de fermentación microbiana. En el último caso, los microbios, pueden expresar sus enzimas y sustratos naturales o éstos pueden diseñarse para producir sustratos y enzimas respectivos. Se pueden usar cultivos microbianos individuales o cultivos mixtos. La formación de sialiloligosacáridos puede iniciarse mediante sustratos aceptores a partir de cualquier grado de polimerización (DP) desde DP = 1 en adelante.

De una forma preferible, la composición nutritiva, comprende un porcentaje del 3,0 al 12,0 % de la mezcla de oligosacáridos, de una forma más preferible, un porcentaje del 4,0 al 7,0 %, de la mezcla de oligosacáridos.

La composición nutritiva, comprende, de una forma preferible, un porcentaje de por lo menos el 0,03 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, un porcentaje de por lo menos el 3,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido y un porcentaje de por lo menos el 0,08 %, en peso, de un oligosacárido sialilado, de una forma más preferible, un porcentaje de por lo menos el 0,04 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, un porcentaje de por lo menos el 4,0% en peso de un galacto-oligosacárido y un porcentaje de por lo menos el 0,09 %, en peso, de un oligosacárido sialilado.

Una composición nutritiva en concordancia con la invención, también comprende, así mismo, de una forma preferible, por lo menos una cepa bacteriana probiótica. Un probiótico es una preparación de células microbianas o componentes de células microbianas con un efecto beneficioso sobre la salud o el bienestar del huésped. Entre las cepas bacterianas probióticas adecuadas se incluyen *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 obtenible de la firma Valio Oy de Finlandia con la marca LGG, *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1.3724, *Lactobacillus paracasei* CNCM 1-2116, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 y *Lactobacillus reuteri* OBRACUMUSUS, Rectai. *Streptococcus salivarius* DSM 13084, comercializado por la firma BLIS Technologies Limited de Nueva Zelanda con la designación K 12, *Bifidobacterium lactis* CNCM 1-3446 comercializado, entre otros, por la empresa cristiana Hansen de Dinamarca con la marca Bb 12, *Bifidobacterium longum* ATCC BAA-999, comercializado por la firma Morinaga Milk Industry Co. Ltd. de Japón con la marca BB536, la cepa de *Bifidobacterium breve* comercializada por la firma Danisco con la marca Bb-03, la cepa de *Bifidobacterium breve* comercializada por la firma Morinaga con la marca comercial M- 16V, la cepa de *Bifidobacterium infantis* comercializada por la firma Procter & Gamble Co. con la marca Bifantis y la cepa de *Bifidobacterium breve*, comercializada por la firma Institut Rosell (Lallemand) con la marca R0070. El probiótico se puede agregar en una cantidad entre comprendida entre 10e3 y 10e12 ufc / g de la materia en polvo, de una forma preferible, en una cantidad comprendida entre 10e7 y 10e12 ufc / g de la materia en polvo.

De una forma preferible, la composición nutritiva en concordancia con la invención es una fórmula infantil. La composición general de una fórmula infantil en concordancia con la invención se describirá ahora a modo de ejemplo.

La fórmula contiene una fuente de proteínas. No se cree que el tipo de proteína sea crítico para la presente invención, siempre cuando se cumplan los requisitos mínimos para el contenido de aminoácidos esenciales y se garantice un crecimiento satisfactorio. Así, por lo tanto, pueden usarse fuentes de proteínas basadas en suero lácteo, caseína y mezclas de las mismas, así como fuentes de proteínas basadas en soja. En lo que respecta a las proteínas de suero lácteo, la fuente de proteína, puede basarse en suero lácteo ácido o en suero lácteo o en mezclas de los mismos y ésta puede incluir alfa-lactalbúmina y beta-lactoglobulina en las proporciones deseadas.

Las proteínas, pueden ser intactas o hidrolizadas o éstas pueden ser una mezcla de proteínas intactas y proteínas hidrolizadas. Puede ser deseable el hecho de suministrar proteínas parcialmente hidrolizadas (con un grado de hidrólisis comprendido entre un 2 y un 20 %), tal como, por ejemplo, para lactantes o bebés los cuales se crea que corran el riesgo de desarrollar una alergia a la leche de vaca. Si se requieren proteínas hidrolizadas, el proceso de hidrólisis puede llevarse a cabo según se desee y tal como se conoce en el arte especializado de la técnica. Así, por ejemplo, se puede proceder a preparar un hidrolizado de proteína de suero lácteo hidrolizando, enzimáticamente, la fracción de suero, en una o en más etapas. Si la fracción de suero utilizada como material de partida se encuentra sustancialmente exenta de lactosa, se encuentra entonces que la proteína sufre mucho menos bloqueo de lisina durante el proceso de hidrólisis. Esto permite reducir la extensión del bloqueo de lisina, de un porcentaje de aproximadamente un 15 %, en peso, de lisina total a menos de aproximadamente un 10 % en peso de lisina; por ejemplo, un porcentaje de aprox. el 7 %, en peso, de lisina, lo cual mejora, en gran medida, la calidad nutritiva de la fuente de proteínas.

Una fórmula infantil para lactantes o bebés en concordancia con la presente invención, contiene una fuente de hidratos de carbono. Puede utilizarse cualquier fuente de hidratos de carbono convencionalmente encontrada en una fórmula para lactantes o bebés, tal como la lactosa, la sacarosa, la maltodextrina, el almidón y las mezclas de entre éstos, si bien, no obstante, la fuente de hidratos de carbono preferida, es la lactosa. De una forma preferible, las fuentes de hidratos de carbono, contribuyen en un porcentaje comprendido entre un 35 y un 65 % del total de la energía de la fórmula.

Una fórmula infantil para lactantes o bebés en concordancia con la presente invención contiene una fuente de lípidos. La fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa que sea adecuado para usarse en fórmulas infantiles para lactantes o bebés. Las fuentes de grasa preferidas incluyen a la oleína de palma, al aceite de girasol de alto contenido oleico y al aceite de cártamo de alto oleico. Los ácidos grasos esenciales, el ácido linoleico y el ácido  $\alpha$ -linolénico también se pueden añadir, al igual que pequeñas cantidades de aceites que contengan altas cantidades de ácido araquidónico preformado y ácido docosahexaenoico, tales como los aceites de pescado o los aceites microbianos. En total, el contenido de grasa es, de una forma preferible, tal que contribuya en un porcentaje comprendido entre el 30 y el 55 % de la energía total de la fórmula. La fuente de grasa, tiene, de una forma preferible, un factor de relación entre los ácidos grasos n-6 a n-3 de aprox. 5 : 1 a aprox. 15 : 1; tal como, por ejemplo, de aprox. 8 : 1 a aprox. 10 : 1.

La fórmula infantil para lactantes o bebés, también contendrá, así mismo, todas las vitaminas y minerales que se consideran esenciales en la dieta diaria y en unas cantidades nutritivamente significativas. Se han establecido unos requisitos mínimos para ciertas vitaminas y minerales. Los ejemplos de minerales, vitaminas y de otros nutrientes opcionalmente presentes en la fórmula infantil para lactantes o bebés, incluyen a la vitamina A, la vitamina B1, la vitamina B2, la vitamina B6, vitamina B12, la vitamina E, la vitamina K, la vitamina C, la vitamina D, el ácido fólico, inositol, la niacina, la biotina, el ácido pantoténico, la colina, el calcio, el fósforo, el yodo, el hierro, el magnesio, el cobre, el zinc, el manganeso, el cloruro, el potasio, el sodio, el selenio, el cromo, el molibdeno, la taurina y la L-carnitina. Los minerales, generalmente, se añaden en forma de sal. La presencia y las cantidades de minerales específicos y de otras vitaminas, variarán según la población infantil de lactantes o bebés prevista.

En caso necesario, la fórmula infantil para lactantes o bebés, puede contener emulsionantes y estabilizantes, tales como la lecitina de soja, los ésteres de ácido cítrico de mono- y diglicéridos, y similares.

La fórmula infantil para lactantes o bebés, puede contener, de una forma opcional, otras sustancias, las cuales pueden tener un efecto beneficioso, tal como la lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos y similares.

Finalmente, la fórmula, contendrá un porcentaje del 2,5 al 15,0 %, en peso, de una mezcla de oligosacáridos, la cual consiste en oligosacárido(s) N-acetilado(s), galacto-oligosacárido(s) y oligosacárido(s) sialilado(s) en unas cantidades correspondientes a un porcentaje de por lo menos un 0,02 %, en peso de un N- oligosacárido acetilado, un porcentaje de por lo menos un 2,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido y un porcentaje de por lo menos un 0,04% en peso, de un oligosacárido sialilado, el (los) oligosacárido(s) N-acetilado(s) comprenden un porcentaje del 0,5 al 4,0 % de la mezcla de oligosacárido, el (los) galacto-oligosacárido(s), comprende un porcentaje del 92,0 al 98,5 % de la mezcla de oligosacáridos y los oligosacáridos sialilados, comprenden un porcentaje del 1,0 al 4,0 % de la mezcla de oligosacáridos.

La fórmula infantil para lactantes o bebés, se puede preparar procediendo a mezclar la fuente de proteínas, la fuente de hidratos de carbono y la fuente de grasas en las proporciones apropiadas. Se pueden agregar emulsionantes, en el caso en el que se desee. Se pueden añadir vitaminas y minerales en este punto, pero, generalmente, éstos se añaden con posterioridad, con objeto de evitar la degradación térmica. Cualquier vitamina lipofílica, emulsionante y similares, pueden disolverse en la fuente de grasa, antes proceder al mezclado. El agua, de una forma preferible agua que haya sido sometida a una ósmosis inversa, puede entonces añadirse y mezclarse, para formar una mezcla líquida.

La mezcla líquida, puede tratarse térmicamente, con objeto de reducir las cargas bacterianas. Así, por ejemplo, la mezcla líquida, puede calentarse rápidamente, a una temperatura correspondiente a un rango comprendido dentro de unos márgenes que van desde los aprox. 80 °C hasta los aprox. 110 °C, durante un transcurso de tiempo de aprox. 5 segundos a aprox. 5 minutos. Esto puede llevarse a cabo mediante la inyección de vapor o mediante un intercambiador de calor, tal como, por ejemplo, un intercambiador de calor de placas.

La mezcla líquida, puede enfriarse, a continuación a una temperatura comprendida dentro de un rango que va de aprox. 60 °C a aprox. 85 °C, tal como, por ejemplo, mediante enfriamiento "flash" (enfriamiento instantáneo). La mezcla líquida se puede homogeneizar, por ejemplo, en dos etapas, a un valor comprendido dentro de un rango que va de aprox. 7 MPa a aprox. 40 MPa, en la primera etapa, y a un valor comprendido dentro de un rango que va de aprox. 2 MPa a aprox. 14 MPa, en la segunda etapa. La mezcla homogeneizada, puede enfriarse, a continuación, para añadir cualquier componente el cual se sensible al calor, tales como vitaminas y minerales. El valor pH y el contenido de sólidos de la mezcla homogeneizada se estandariza, de una forma conveniente, en este punto.

La mezcla homogeneizada, se transfiere a un aparato de secado adecuado, tal como un secador por proyección

pulverizada o un secador por congelación (liofilizador), y éste se convierte en una materia en polvo. La materia en polvo en cuestión, debe tener un contenido de humedad de menos de aprox. un 5 %, en peso.

5 Los oligosacáridos, se pueden añadir directamente a la fórmula infantil para lactantes o bebés, mediante mezclado en seco.

De una forma preferible, la fórmula infantil para lactantes o bebés en concordancia con la invención, se proporciona, al lactante o bebé, en cada comida.

10 La invención se ilustrará, ahora, con referencia a los ejemplos que se facilitan a continuación.

**Ejemplo 1**

15 A continuación se proporciona un ejemplo de la composición de una fórmula infantil para lactantes o bebés, en concordancia con la presente invención.

Nutriente	por 100 Kcal	por litro
Energía (Kcal)	100	670
Proteína (g)	1,83	12,3
Grasa (g)	5,3	35,7
Ácido linoleico	0,79	5,3
Ácido α-linolénico (mg)	101	675
Lactosa (g)	11,2	74,7
Galacto-oligosacáridos (g)	1,1	6,8
Oligosacáridos N-acetilados (g)	0,027	0,055
Oligosacáridos sialilados (g)	0,027	0,134
Minerales (g)	0,37	2,5
Na (mg)	23	150
K (mg)	89	590
Cl (mg)	64	430
Ca (mg)	62	410
P (mg)	31	210
Mg (mg)	7	50
Mn (µg)	8	50
Se (µg)	2	13
Vitamina A (µg RE)	105	700
Vitamina D (µg)	1,5	10
Vitamina E (mg TE)	0,8	5,4
Vitamina K1 (µg)	8	54
Vitamina C (mg)	10	67
Vitamina B1 (mg)	0,07	0,47
Vitamina B2 (mg)	0,15	1,0
Niacina (mg)	1	6,7
Vitamina B6 (mg)	0,075	0,50
Ácido fólico (µg)	9	60
Ácido pantoténico (mg)	0,45	3
Vitamina B12 (µg)	0,3	2
Biotina (µg)	2,2	15
Colina (mg)	10	67
Fe (mg)	1,2	8
I (µg)	15	100
Cu (mg)	0,06	0,4
Zn (mg)	0,75	5

## Ejemplo 2

Se procedió a investigar el efecto de una composición nutritiva en concordancia con la invención, sobre la lipogénesis y la oxidación de las grasas, en ratones exentos de gérmenes inoculados con una microbiota humana para lactantes o bebés (HBM – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a human baby microbiota] -).

**Diseño experimental.** Se procedió a alojar un total de 19 ratones hembra exentos de gérmenes C3H (Charles River, Francia), en las mismas condiciones ambientales, y éstos se alimentaron con una dieta estándar para roedores semisintética irradiada (Reeves et al, 1993). A las 8 semanas de edad, los ratones exentos de gérmenes, recibieron una dosis única de la mezcla de bacterias de microbiota humana para lactantes o bebés (HBM) y éstos se asignaron, de una forma aleatoria, a 2 grupos, los cuales siguieron diferentes intervenciones nutritivas durante un transcurso de tiempo de 2 semanas. Se había reportado, previamente, sobre la composición de HBM (Martin et al, 2007). Un grupo, se mantuvo como control, y éste se alimentó con una dieta de "mezcla basal", la cual contenía, en la composición, un porcentaje del 2,5 % de una mezcla de glucosa-lactosa (un porcentaje del 1,25 % cada una de ellas) (grupo control, n = 9). Un segundo grupo de ratones, se alimentó con una dieta que contenía un porcentaje del 0,11 % de oligosacáridos N-acetilados, un porcentaje del 2,7 % de galacto-oligosacáridos y un porcentaje del 0,11 % de oligosacáridos sialilados (grupo experimental, n = 10).

**Recolección de muestras y mediciones analíticas** Se recogieron orinas de la mañana, plasma sanguíneo y tejidos hepáticos intactos tras la autopsia animal y éstas se congelaron rápidamente antes del análisis metabonómico. La metabonómica utilizando métodos espectroscópicos de alta resolución con subsiguientes análisis estadísticos multivariados, es una estrategia la cual se encuentra bien establecida, para el perfil de la trayectoria metabólica diferencial y la evaluación de los efectos y la eficacia de la intervención dietética (Martin et al, 2008; Nicholson et al, 2005; Rezzi et al, 2007b; Rezzi et al, 2007a; Stella et al, 2006). Los perfiles metabólicos, se extrajeron mediante procedimientos analíticos multivariados para recuperar sondas metabólicas de intervención de oligosacáridos, las cuales sirven como referencia para describir y predecir grupos de animales en concordancia con los tratamientos (Tabla 1).

## Resultados

La Tabla 1 y la Figura 1 muestran el hecho de que, el uso de una composición nutritiva en concordancia con la invención reduce la concentración de triglicéridos en el hígado. El control y los grupos experimentales se compararon usando una Prueba t de Student, no apareada y, la diferencia, era estadísticamente significativa a un 95 % de nivel de confianza. La Tabla 1 y la Figura 2, muestran el hecho de que, el uso de una composición nutritiva en concordancia con la invención también reducía, así mismo, la lipogénesis y la incorporación de triacilglicerol en las lipoproteínas en el hígado, siendo, la medición de Delta CT representada en el eje y, en la Figura 2, la diferencia entre el ciclo umbral del gen de interés y el del gen de referencia endógeno. La disminución en los niveles de expresión en animales, en el grupo experimental, era significativa, a un nivel de confianza del 99,9 % cuando se utilizaba la prueba t de Student no emparejada. Una mayor excreción urinaria de carnitina y acetil-carnitina, mostraba, de una forma adicional, un aumento de la oxidación de ácidos grasos (Tabla 1). Estos resultados, conjuntamente con una mayor actividad metabólica de betaína homocisteína metil transferasa en el hígado (Tabla 1) indicaban una mayor secreción de partículas de lipoproteínas nacientes, de menor tamaño y con menos triacilgliceroles.

Las mediciones de los triglicéridos y de la actividad de la proteína microsomal de transferencia de triglicéridos (MTTP – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a microsomal triglyceride transfer protein] -) y la sintasa de ácidos grasos (FAS – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a fatty acid synthase] -), en los hígados de ratones en los grupos control y experimental, confirmaron el hecho de que, los ratones, en el grupo experimental, tenían unos valores disminuidos de los triglicéridos hepáticos, de las actividades lipogénicas (FAS) y de la incorporación de triglicéridos en lipoproteínas (MTTP) (Figura 2).

Las más altas concentraciones de carnitina y de acetil-carnitina y los niveles más bajos de L-aminoácido y  $\alpha$ -ceto-isocaproato en la orina de ratones que recibían prebióticos, proporcionan una evidencia adicional de un cambio en el metabolismo de los lípidos (Kliewer et al, 1997). De una forma particular, la carnitina es un cofactor el cual se encuentra bien caracterizado, el cual se requiere para la transformación de ácidos grasos de cadena larga, exentos de acilcarnitinas y para su posterior transporte a la matriz mitocondrial, en donde éstos, experimentan una oxidación  $\beta$  (Bremer, 1983). Así, por lo tanto, los resultados obtenidos, indican un aumento de la oxidación de ácidos grasos (Tabla 1).

Estos resultados muestran cambios específicos del hígado en la betaína homocisteína metil transferasa (BHMT), las trayectorias metabólicas que interconectan estrechamente la colina, la betaína y la formación de metionina a partir de la homocisteína (Niculescu y Zeisel, 2002). Se ha reportado sobre el hecho de que, el aumento de la expresión de BHMT, es un mecanismo potencial que contribuye a una mayor secreción de la ApoB disponible para el ensamblaje de las VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad – [de sus siglas, en idioma inglés, correspondientes a Very-low-density lipoproteins] -) (Sparks et al, 2006). De una forma adicional, estudios previos llevados a cabo, describieron que ciertas dietas a base de complejos de hidratos de carbono (almidón), proporcionan como resultado

una mayor secreción de partículas nacientes de VLDL, de menor tamaño y con menos triacilgliceroles, y aumentan las tasas catabólicas fraccionales de VLDL apo B (Fernández et al, 1996). Así, por lo tanto, un metabolismo BHMT mejorado y actividades MTTP más bajas indican una mayor síntesis de apoproteínas apo B y una transferencia disminuida de lípidos a lipoproteínas nacientes, lo que sugiere la participación de un mecanismo similar en respuesta a esta intervención.

5

Tabla 1

Metabolitos influyentes que describen los efectos metabólicos prebióticos en plasma, hígado y orina		
Metabolito	Grupo de control	Grupo experimental
<b>Plasma</b>		$Q_Y^2 = 29 \%$ , $R_X^2 = 86 \%$
Lipoproteínas	$0,5 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,1$
<b>Hígado</b>		$Q_Y^2 = 36 \%$ , $R_X^2 = 46 \%$
Betaina	$1,6 \pm 0,3$	$2,5 \pm 0,2^{***}$
Colina	$0,5 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,2^{***}$
DMG	$0,06 \pm 0,02$	$0,19 \pm 0,05^{***}$
Triglicéridos	$3,6 \pm 1,3$	$2,1 \pm 0,4^*$
Fosfocolina	$1,7 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,3^{***}$
Sarcosina	$0,14 \pm 0,03$	$0,18 \pm 0,2^*$
<b>Orina</b>		$Q_Y^2 = 70 \%$ , $R_X^2 = 49 \%$
Carnitina	$0,3 \pm 0,06$	$5,2 \pm 1,3^{***}$
N-acetil-carnitina	$0,17 \pm 0,02$	$1,3 \pm 0,3^{***}$
$\alpha$ -ceto-isopropanoato.	$1,3 \pm 0,3$	$0,9 \pm 0,1^{***}$
$\alpha$ -aminoadipato	$0,33 \pm 0,05$	$0,19 \pm 0,02^{***}$

Los modelos O-PLS se generaron con 1 componente predictivo y 2 componentes ortogonales para discriminar entre 2 grupos de ratones. El valor  $R_X^2$ , muestra la cantidad de variación en el conjunto de datos X que se explica mediante el modelo. El valor  $Q_Y^2$ , representa la previsibilidad de los modelos y éste, se refiere a su validez estadística. Los datos se presentan como intensidades normalizadas de área (a.u.) de señales de metabolitos representativas como medias  $\pm$  desviación estándar (SD). Los valores para los ratones HBM suplementados con prebióticos se compararon con los ratones de control HBM, \* y \*\*\* designan diferencias significativas a un 95 % y 99,9% de nivel de confianza, respectivamente.

## REIVINDICACIONES

- 1.- Uso de un oligosacárido N-acetilado, un galacto-oligosacárido y un oligosacárido sialilado, en la elaboración de una composición nutritiva para administrar a un lactante, en los primeros seis meses de vida, para reducir el riesgo de obesidad más adelante, durante el transcurso de su vida para reducir la lipogénesis del lactante y / o para fomentar la oxidación beta de ácidos grasos, por el lactante.
- 2.- El uso de cualquier reivindicación precedente, en donde, el oligosacárido acetilado, es GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal  $\beta$ 1,6GalNAc $\alpha$ 1,3G $\beta$ 1,4Glc, o una mezcla de los mismos.
- 3.- El uso de cualquier reivindicación precedente, en donde el galacto-oligosacárido es Gal $\beta$ 1,6Gal, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ ,1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc o una mezcla de los mismos.
- 4.- El uso de cualquier reivindicación precedente, en donde, el oligosacárido sialilado es NeuAc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc, NeuAc $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4Glc o una mezcla de los mismos.
- 5.- Una composición nutritiva para la administración a un lactante, en los primeros seis meses de vida, para reducir el riesgo de obesidad, más tarde, durante el transcurso de su vida, para reducir la lipogénesis en el lactante, y o para fomentar la oxidación beta de los ácidos grasos, por el lactante, composición ésta la cual comprende, en base a materia seca, de un 2,5 a un 15,0 %, en peso, de una mezcla de oligosacáridos, la cual consiste en oligosacárido(s) N-acetilado(s), galacto-oligosacárido(s) y oligosacárido(s) sialilado(s), con la condición de que la composición comprenda por lo menos un 0,02 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, por lo menos el 2,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido y por lo menos un 0,04 %, en peso, de un oligosacárido sialilado y que el (los) oligosacárido(s) N-acetilado(s), comprendan de un 0,5 a un 4,0 %, de la mezcla de oligosacáridos, que el (los) galactoligosacárido(s) comprendan de un 92,0 a un 98,5 % de la mezcla de oligosacáridos, y que el (los) oligosacárido(s) sialilados comprendan de un 1,0 a un 4,0 % de la mezcla de oligosacáridos.
- 6.- La composición para el uso de la reivindicación 5, la cual comprende por lo menos el 0,03 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, por lo menos el 3,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido, y por lo menos el 0,08 %, en peso, de un oligosacárido sialilado.
- 7.- La composición para el uso de la reivindicación 5 ó 6, la cual comprende por lo menos un 0,04 %, en peso, de un oligosacárido N-acetilado, por lo menos 4,0 %, en peso, de un galacto-oligosacárido y por lo menos 0,09 %, en peso, de un oligosacárido sialilado.
- 8.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, la cual comprende de un 3,0 a un 12,0 % de la mezcla de oligosacáridos.
- 9.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, la cual comprende de un 4,0 a un 7,0 % de la mezcla de oligosacáridos.
- 10.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en donde, el oligosacárido N-acetilado es GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6GalNAc $\alpha$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc ó una mezcla de los mismos.
- 11.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, en donde, el galactooligosacárido, es Gal $\beta$ 1,6Gal, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal  $\beta$ 1,6Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,3Gal $\beta$ 1,4Glc, Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc y Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Gal $\beta$ 1,4Glc ó una mezcla de los mismos.
- 12.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, en donde, el oligosacárido sialilado es NeuAc $\alpha$ 2,3Gal $\beta$ 1,4Glc, NeuAc $\alpha$ 2,6Gal $\beta$ 1,4Glc ó una mezcla de los mismos.
- 13.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, la cual comprende, de una forma adicional, una cepa bacteriana probiótica.
- 14.- La composición para el uso de la reivindicación 13, en donde, la cepa bacteriana probiótica es Lactobacillus rhamnosus ATCC 53103, Lactobacillus rhamnosus CGMCC 1.3724, Lactobacillus reuteri DSM 17938, Streptococcus salivarius DSM 13084 o Bifidobacterium lactis CNCM 1-3446.
- 15.- La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 14, la cual es una fórmula infantil para lactantes.

Figura 1

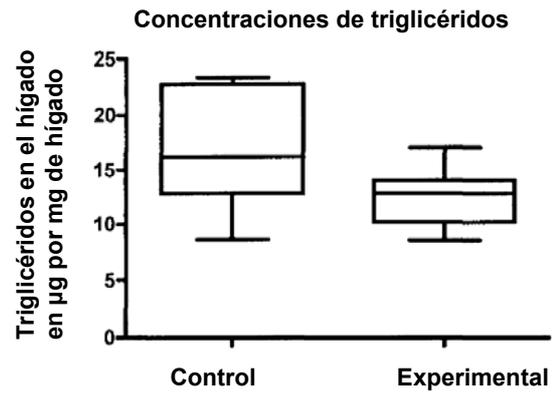


Figura 2

