

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-057844- -00000-0000

Fecha: 2012-04-10 08:23:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 35

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO ADMINISTRACION ENTERAL DEL DIPEPTIDO ARGININA - GLUTAMINA PARA

RESPALDAR EL DESARROLLO RETINIANO, INTESTINAL, O DEL SISTEMA NERVIOSO

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL A61K 38/00

71. SOLICITANTE MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY
UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INC.

DOMICILIO EVANSVILLE, ESTADO DE INDIANA; GAINESVILLE, ESTADO DE FLORIDA, E.U.A.

74. APODERADO GERMAN CASTILLO GRAU

22. BOGOTÁ, D.C., _____

PETITORIO



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-057844-00000-0000

Fecha: 2012-04-10 08:23:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 35

radicación

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTES PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención

☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I

☐ Capítulo II

2

SOLICITANTE

Nombre: **MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY
UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH
FOUNDATION, INC.**

Dirección: 2400 W. Lloyd Expressway, 223
Grinter Hall

Nacionalidad o Domicilio: Evansville, Estado de
Indiana; Gainesville, Estado de Florida, E.U.A.

Lugar de Constitución: E.U.A.

Teléfono: Fax:

E-mail:

IDENTIFICACION

☐ C.C.

☐ NIT

☐ C.E.

☐ Otro

Cual

Número

3

REPRESENTANTE O APODERADO

Nombre: **GERMAN CASTILLO GRAU**

Dirección: Carrera 13 No. 37 - 43 Piso 12

Teléfono: 285 7460 Fax: 285 9267

E-mail: info@castillograu.com

IDENTIFICACIÓN

☒ C.C.

☐ NIT

☐ C.E.

☐ Otro

Cual

Número

17.017.671

TF 2.978

de Bogotá

del C.S.J

4

INVENTOR (ES) (72)

Nombre: Joshua Anthony; Kristin Morris; Maria Grant; Joseph Neu

Dirección: 3301 Cobblefield Drive; 709 N. Woods Avenue; P.O. Box 723; 6516 SW
93rd Avenue

Nacionalidad o Domicilio: Evansville, Estado de Indiana; Fairfield, Gainesville,
Estado de Florida, E.U.A.

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/052585

Fecha Octubre 14, 2010

Solicitud Internacional No. WO 2011/047107 A1

Fecha Abril 21, 2011

6

Título (54) ADMINISTRACIÓN ENTERAL DEL DIPÉPTIDO ARGININA-GLUTAMINA PARA RESPALDAR EL DESARROLLO RETINIANO, INTESTINAL, O DEL SISTEMA NERVIOSO

7

Clasificación Internacional (51) A61K 38/00

8

Prioridad

☒ SI ☐ NO

(33)País de Origen

E.U.A.

(32) Fecha

Octubre 14, 2009

(31) Número de Solicitud

12/578,922

9

Comprobante de pago No.

33980

Fecha

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página

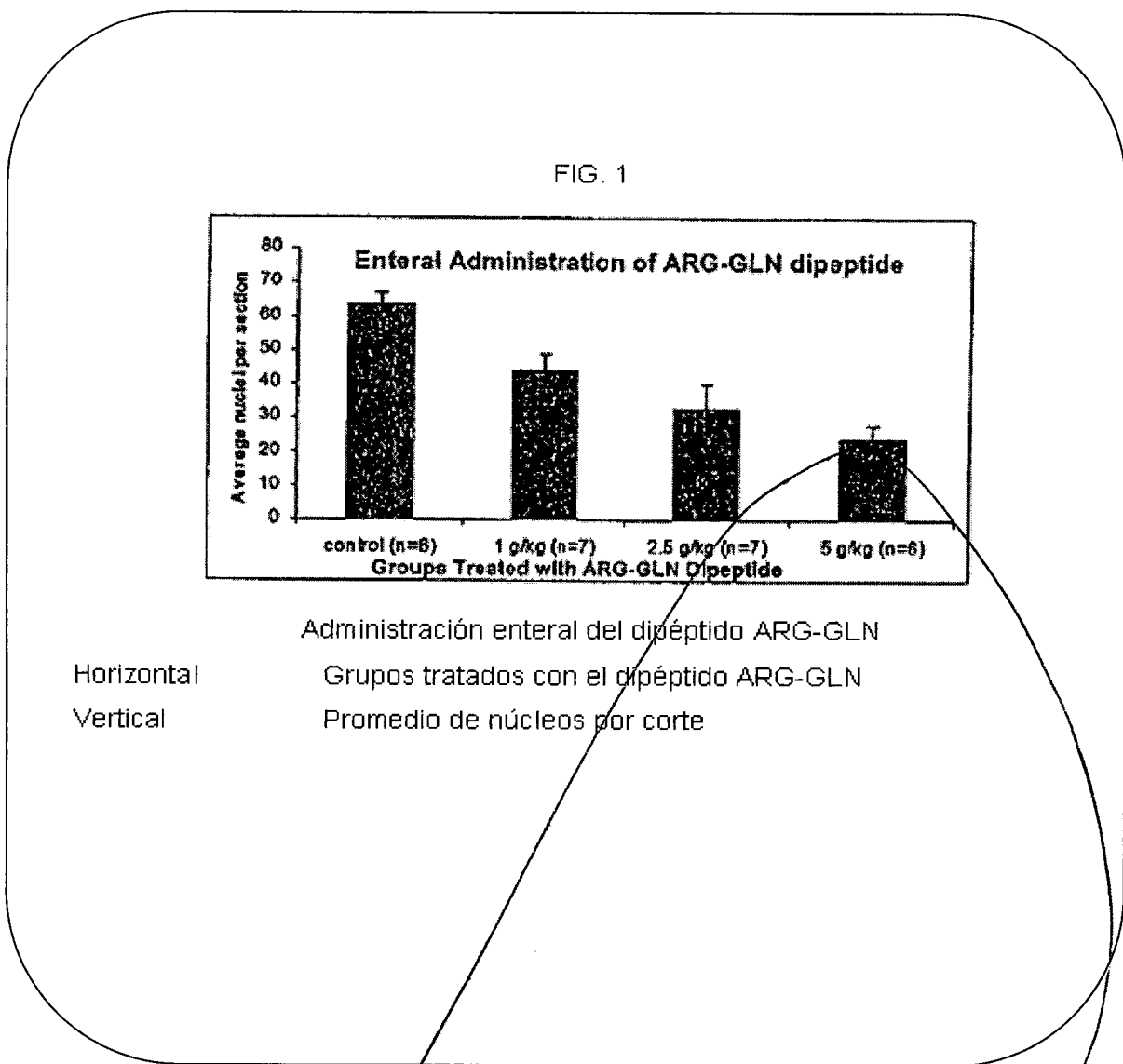
10

Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Copia Auténtica**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen preliminar (IPEA)
- ☐ Traducción de examen preliminar internacional efectuado por la (IPEA)
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☒ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☐ Otros

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente.

NOMBRE: GERMAN CASTILLO GRAU

FIRMA:

C.C.

17.017.671 de
Bogotá

TP

2.978
de C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

SECRETARY OF STATE
STATE OF INDIANA



Todd Rokita
Secretary of State

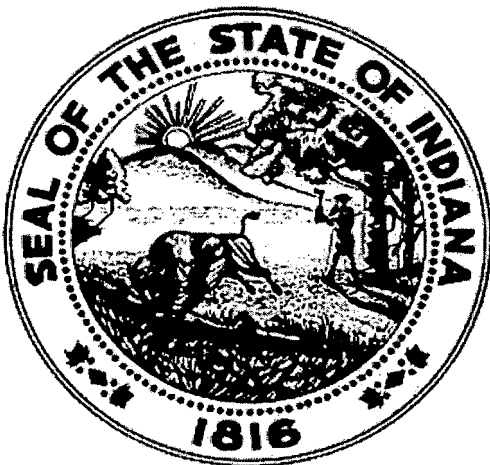
APOSTILLE

(Convention de la Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by *Tammy J. Welcher*
3. acting in the capacity of notary public in & for *Vanderburgh* County
4. and bears the seal/stamp of notary public in & for the State of Indiana

CERTIFIED

5. at Indianapolis, Indiana
6. this the *fourth* day of *October*, 2010
7. by Secretary of State of Indiana
8. No. A2010 - 17527
9. Seal/Stamp:
10. Signature:



Todd Rokita

Todd Rokita
Indiana Secretary of State

3



Effective May 1, 2003 all apostilles from the Indiana Secretary of State must have an electronically printed seal.
Lwiseman

Castillo Grau & Associates
Law Offices
P.O. Box 251473
Bogotá, Colombia

FOR PATENTS AND TRADEMARKS IN
COLOMBIA

PODER GENERAL

(1) MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY

domiciliado en (2) 2400 W. Lloyd Expressway, Evansville, Estado de Indiana, E.U.A.

nombra al Dr. Germán Castillo Grau y/o Adriana Castillo Gibsone y/o Luis Felipe Castillo Gibsone

.....
con oficinas en la Carrera 13 No. 37-43, Piso 12 en Bogotá, D.C., Colombia como sus representantes con poder especial amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades Colombianas, administrativas, judiciales o de policía, en primera o segunda instancia, la Obtención de Patentes de Invención, Registro de Marcas, de Diseños Industriales, de Nombres y Enseñas Comerciales, lo mismo que traspasos, extensiones, renovaciones, cambios de nombre y domicilio, registro de licencias de explotación y registro de licencias de uso referentes a tales actuaciones, a cuyo efecto les faculta para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, apelaciones y reclamos, solicitar la aplicación de medidas cautelares, aceptar en nuestro nombre y representación la Cesión de derechos de invención y de patente de invención que se nos haga por cualquier persona, abonar todos los impuestos cuotas y pagos determinados por la ley, recibir todos los documentos y valores dando el descargo respectivo, llenar cualesquiera otros requisitos, desistir, y tomar en fin todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses y en caso de presentarse oposiciones para que intervengan como demandantes o como demandados, con todas las demás facultades legales necesarias. Este poder comprende además las facultades de recibir, desistir, transigir, comprometer, sustituir, revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extra-judiciales

Dado y firmado en (4)

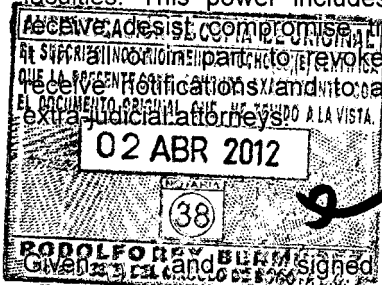
GENERAL POWER OF ATTORNEY

(1) MEAD JOHNSON NUTRITION COMPANY

domiciled in (2) 2400 W. Lloyd Expressway, Evansville, Indiana, U.S.A.

hereby appoint Dr. Germán Castillo Grau and/or Adriana Castillo-Gibsone and/or Luis Felipe Castillo-Gibsone

.....
with offices at Carrera 13 No. 37-43, 12th Floor in Bogotá, Colombia as our representatives with special ample and sufficient power to obtain from the offices and Colombian authorities, administrative, judicial and police, in first or in second instance, Patents of Invention, registration of Trade or Service Marks, Industrial Designs, of Commercial Names and Ensigns, as well as assignments, extensions, renewals, changes of names and addresses, registration of licences of exploitation and licences of use referring to said actions who are empowered to take before said authorities all of the necessary steps for the purposes indicated, to file applications, to formulate descriptions, corrections, protests, declarations, appeals and claims, apply for precautionary measures, to accept on our behalf and representation the assignment of rights on invention and titles of invention that may be given to us by any person, to pay all taxes, quotas and payments prescribed by law, to receive all the documents and proceeds giving the respective acquiescence or receipt, to fulfill any other requisites to desist and take in fact any other measures that may be deemed conducive to the safeguard of our interests, and in case oppositions are presented to intervene as plaintiff or defendant, with all necessary legal faculties. This power includes the faculties to



..... in (4)

Firma/Signature

Kofi B. Kwarteng

Kofi B. Kwarteng, Assistant General Counsel & Assistant Secretary

Corporate Seal to be Affixed Mead Johnson Nutrition Company

DECLARACION NOTARIAL

(Individual)

A los días del mes de de 2010
compareció personalmente ante mí, Notario
Público el/la señor(a)

A quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s) persona(s) descrita(s) y firmante(s) del documento que precede, declarando ante mí que otorga(n) el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

El Notario Público

(Sociedades)

El infrascrito Notario certifica: que la(s) firma(s)
que antecede(n) y dice(n):

es (son) auténtica(s); que el (los) signatario(s) desempeña(n) el (los)

cargos de

de MEAD JOHNSON NUTRITION
COMPANY

que tiene(n) facultad para otorgar este poder; y que dicha compañía está domiciliada en Evansville, Estado de Indiana, E.U.A.

y actualmente existe y está organizada de
acuerdo a las leyes de

Todos los hechos anteriores le constan por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Dado y firmado en.....

El Notario Público
(Con Apostilla)

NOTARIAL CERTIFICATE
(Individuals)

On this.....day of.....of 2010.....
personally appeared before me, a Notary Public,

to me known, and known to be the person(s) described in and who executed the foregoing document, and he(they) duly acknowledged to me that he(they) executed same for the uses and purposes therein expressed.

Notary Public

(Corporations)

The undersigned Notary Public certifies: that
the preceding signature(s) reading . .

Kofi B. Kwarteng

is (are) authentic; that the signor(s) at present
fill(s) the

post(s) of Assistant General Counsel
and Assistant Secretary

of MEAD JOHNSON NUTRITION
COMPANY

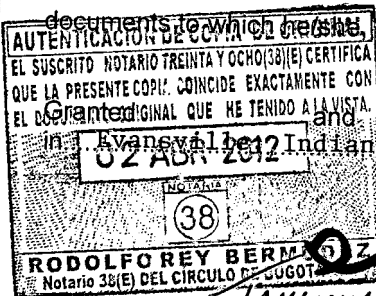
and that he/she (they) is (are) empowered to grant this power; and that said company is domiciled in Evansville, Indiana, U.S.A.

and actually exists and is organized in
accordance with the laws of Delaware, USA

All the foregoing facts are known to the Notary
due to his/her having examined the respective

documents to which he/she, the Notary, attests.

signed



Tammy J. Welcher

Notary Public

My Commission Expires: August 15, 2015
(With Apostille)

Resident of Vanderburgh County, Indiana USA

DESCRIPCIÓN

ADMINISTRACIÓN ENTERAL DEL DIPÉPTIDO ARGININA-GLUTAMINA PARA RESPALDAR EL DESARROLLO RETINIANO, INTESTINAL, O DEL SISTEMA NERVIOSO

CAMPO TÉCNICO

[0001] La presente revelación se relaciona con un método que generalmente comprende la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso.

REVELACIÓN DE LA INVENCION

[0002] En pocas palabras, una modalidad de la presente revelación se relaciona con un método novedoso para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato. El método generalmente incluye la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina a un neonato para proporcionar una cantidad de dipéptido arginina-glutamina que sea efectiva para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso, especialmente en un bebé que de otra parte no está recibiendo un aporte nutricional adecuado de arginina y glutamina.

[0003] En otra modalidad, la presente revelación presenta una leche maternizada novedosa para bebé. La leche maternizada para bebé generalmente incluye el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.

[0004] Todavía en otra modalidad, la presente revelación es un enriquecedor de la leche humana. El enriquecedor de la leche humana generalmente incluye el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.

[0005] En una modalidad diferente, la presente revelación es un suplemento nutricional para bebés. El suplemento nutricional para bebés generalmente incluye el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.

[0006] Por tanto, entre las varias modalidades de la presente revelación puede estar proporcionar composiciones y practicar los métodos que respalden el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso y proporcionar composiciones y practicar métodos para tratar los síntomas de la hiperoxia, prevenir la retinopatía de la prematurez (ROP), y/o reducir el riesgo de que sobrevenga la enterocolitis necrotizante (NEC).

[0007] Estas y otras modalidades de la revelación serán entendidas y se tornarán aparentes luego de la revisión de la especificación por la persona medianamente versada en la materia técnica correspondiente.

[0008] La presente revelación puede entenderse mejor haciendo referencia a la siguiente descripción. Debe saberse que la revelación no está limitada en su aplicación a los detalles específicos que aparecen en la siguiente descripción. La revelación es capaz de otras modalidades y de ser practicada o llevada a la práctica de diversas formas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0009] Para conseguir una comprensión más completa de la presente revelación, ahora se hará referencia a las siguientes descripciones tomadas en su conjunto con los dibujos acompañantes.

[00010] La Fig.1 es una gráfica de barras que muestra el efecto de la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina en la reducción de los núcleos promedio por sección de los ojos de ratones neonatos expuestos a hiperoxia para inducir angiogénesis en la retina en niveles de dosificación de: cero (control); 1 g/kg/día; 2,5 g/kg/día; y 5 g/kg/día.

[00011] La Fig. 2 es una gráfica de barras que cuantifica el nivel de lesión intestinal de ratones neonatos bajo tres condiciones diferentes: control; condiciones de hiperoxia; y condiciones de hiperoxia combinadas con tratamiento con el dipéptido arginina-glutamina.

[00012] La Fig. 3 es una gráfica de barras que muestra el efecto de administrar el dipéptido arginina-glutamina en el aumento de la expresión de Bcl-2 en el cerebro de ratones neonatos expuestos a condiciones de hiperoxia.

[00013] La Fig. 4 es una gráfica de barras que muestra el efecto de administrar el dipéptido arginina-glutamina en la disminución de la actividad cerebral de caspasa-3 en el cerebro de ratones neonatos expuestos a condiciones de hiperoxia.

MEJOR MANERA DE REALIZAR LA INVENCION

[00014] La presente revelación proporciona composiciones que contienen dipéptido arginina-glutamina y métodos para administrarlas. En particular, la revelación en cuestión proporciona la administración enteral del dipéptido arginina-glutamina para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso. Tal como se usa en este contexto, "enteral" significa a través de o dentro del tracto gastrointestinal o digestivo y "administración enteral" incluye alimentación por vía oral, alimentación por vía intragástrica, administración transpilórica, o cualquier otra introducción dentro del tracto digestivo.

[00015] En una modalidad particularmente efectiva, la administración enteral de ciertas cantidades del dipéptido arginina-glutamina es efectiva para facilitar un desarrollo cerebral saludable, prevenir la retinopatía de la prematuridad (ROP), disminuir el daño intestinal, y/o reducir el riesgo de que sobrevenga la enterocolitis necrotizante (NEC). La ROP es un trastorno del desarrollo de los vasos sanguíneos de la retina que sufren los bebés prematuros. La NEC es una de las principales causas de mortalidad y morbilidad en unidades de cuidados intensivos neonatales.

[00016] Un dipéptido es una molécula compuesta por dos aminoácidos unidos por un enlace peptídico simple. En la presente revelación, los dos aminoácidos utilizados son arginina y glutamina.

[00017] La revelación en cuestión contempla la administración enteral del dipéptido arginina-glutamina en cualquier forma que pueda ser ingerida y absorbida. La arginina y la glutamina son contempladas como útiles en la presente revelación como: (1) aminoácidos libres o sales; (2) precursores de dichos aminoácidos; o (3) prodrogas. Aunque la mayoría de los aminoácidos existe en forma enlazada en varias proteínas, los aminoácidos libres no están enlazados. Los precursores de aminoácidos son sustancias a partir de las cuales se forman los aminoácidos. Una prodroga puede estar basada en un aminoácido particular y es una sustancia farmacológica que se administra en una forma inactiva (o

significativamente menos activa). Una vez administrada, la prodroga es metabolizada *in vivo* en el compuesto activo.

[00018] Además, un dipéptido arginina-glutamina puede administrarse por sí mismo. Por otra parte, los oligopéptidos, péptidos, proteínas, hidrolizados de proteínas y cualquier otro material que pueda servir como fuente del dipéptido arginina-glutamina también se puede administrar ya sea como un sustituto o un aditivo. Algunos ejemplos de esas fuentes incluyen péptidos de poliarginina y poliglutamina, péptidos que contienen bloques de poliarginina y poliglutamina y péptidos alternados de arginina y glutamina.

[00019] En el caso de los oligopéptidos, péptidos y proteínas que contienen el dipéptido arginina-glutamina, estas formulaciones de prodrogas pueden estar diseñadas con, por ejemplo, sitios de división adyacentes a cada lado del dipéptido arginina-glutamina de manera que el dipéptido se genera luego de la exposición a enzimas, ácidos, u otros factores.

[00020] En una modalidad, un polipéptido se puede preparar con múltiples dipéptidos arginina-glutamina separados por sitios de división. Cuando el polipéptido se expone a un factor separador, el cual fracciona el polipéptido, queda separado en múltiples dipéptidos arginina-glutamina. Este fraccionamiento para crear el dipéptido se puede llevar a cabo como parte de un proceso de producción o *in vivo* como el resultado de, por ejemplo, enzimas digestivas y/o ácidos.

[00021] Como se contempla en la revelación en cuestión, cuando el dipéptido arginina-glutamina es proporcionado por una prodroga, la prodroga se puede convertir en un compuesto biológicamente activo a una tasa controlada a través de mecanismos pasivos (como por hidrólisis acuosa) o mediados biológicamente (como biocatalíticos o enzimáticos). Una ventaja de la conversión *in vivo* de la prodroga es que el dipéptido resultante proporciona efectos terapéuticos localizados en tejidos enfermos diana con márgenes terapéuticos elevados de seguridad.

[00022] En una modalidad, el dipéptido arginina-glutamina proporciona los dos aminoácidos en un dipéptido que tiene mejor solubilidad en agua, estabilidad a la esterilización, estabilidad a largo plazo y biodisponibilidad para seres humanos y animales. Una ventaja del dipéptido es su estabilidad aumentada en comparación

con la glutamina libre, por ejemplo, lo cual da lugar a una ciclización mucho menor de la glutamina en el piroglutamato que es indeseable. En una forma, el dipéptido arginina-glutamina de la presente revelación tiene un aminoácido N-terminal, que es arginina y un aminoácido C-terminal, que es glutamina.

[00023] El dipéptido arginina-glutamina de la revelación en cuestión puede ser fácilmente sintetizado y/o formulado por la persona medianamente versada en la técnica que tiene el beneficio de la presente revelación. Como alternativa, los dipéptidos se pueden adquirir comercialmente de, por ejemplo, Bachem Biosciences, Inc., que vende una sal del dipéptido arginina-glutamina. El dipéptido arginina-glutamina puede ser de cualquier pureza o grado y puede ser de una pureza y grado apropiado para incluirlos en la dieta de los bebés humanos.

[00024] La presente revelación es útil para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato. El término "neonato" tal como se usa en este contexto significa un bebé recién nacido, incluidos los bebés prematuros, bebés postmaduros y bebés de término. Los bebés prematuros son bebés que nacen antes de las 37 semanas de gestación. Los bebés postmaduros son los que nacen 2 semanas o más después de las 37 semanas de gestación. Los bebés de término nacen dentro de las 37 y las 39 semanas de gestación.

[00025] En una modalidad de la revelación, el neonato puede tener necesidad de soporte para el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso. Un neonato puede tener necesidad de soporte para el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso, por ejemplo, después de haber estado en condiciones de hiperoxia. Las condiciones de hiperoxia se caracterizan por niveles de saturación de oxígeno superiores a los normales. Los bebés prematuros se ponen habitualmente en un ambiente hiperóxico para propósitos de reanimación y para el tratamiento de problemas respiratorios.

[00026] La neurodegeneración apoptoica, la vascularización anormal, la NEC, u otros déficits neurológicos o infecciones también se pueden usar para identificar a un neonato que puede tener necesidad de soporte para el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso. Un neonato típicamente tiene necesidad de tal soporte si sufre, o corre el riesgo de sufrir, esas patologías. Los bebés prematuros y los bebés expuestos un ambiente hiperóxicos u otras condiciones de las que se sabe que elevan el riesgo de déficit neurológicos o NEC a menudo tienen

2

necesidad de soporte para el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso.

[00027] En otra modalidad de la revelación, el dipéptido arginina-glutamina aquí descrito se puede usar para prevenir la neovascularización del endotelio vascular de la retina, con lo cual respalda el desarrollo saludable de la retina. Dado que se cree que el desarrollo de la retina guarda correlación con el desarrollo cognitivo, esto también puede respaldar las funciones cognitivas normales en el neonato.

[00028] Todavía en otra modalidad, el dipéptido arginina-glutamina aquí descrito puede aumentar la expresión de la proteína Bcl-2 en el cerebro. La proteína Bcl-2 es una proteína antiapoptoica que reside en la membrana mitocondrial externa y la membrana del retículo endoplásmico. Los niveles elevados de la proteína Bcl-2 protegen a las células de la muerte prematura por apoptosis (muerte celular). La proteína Bcl-2 puede suprimir la apoptosis al prevenir la activación de las caspasas que llevan a cabo el proceso.

[00029] Así pues, en una modalidad de la revelación, el dipéptido arginina-glutamina aquí descrito puede disminuir el nivel de las caspasas en el cerebro. Las caspasas son enzimas proteasas que desempeñan papeles esenciales en la apoptosis y la inflamación. Ciertas caspasas fraccionan a otros sustratos proteínicos dentro de las células, lo cual da lugar al proceso de apoptosis. La disminución de los niveles de caspasa puede promover el desarrollo del sistema nervioso.

[00030] De conformidad con las enseñanzas aquí contempladas, se pueden preparar composiciones acuosas que contienen por lo menos un dipéptido arginina-glutamina. El dipéptido puede adicionado a formulaciones enterales, las cuales pueden incluir suplementos nutricionales. Como se examina en mayor detalle más adelante, además del dipéptido arginina-glutamina de la revelación en cuestión, las leches maternizadas, suplementos, o soluciones nutricionales pueden contener, por ejemplo, carbohidratos, lípidos, grasas, estabilizadores, aminoácidos, péptidos (incluidos dipéptidos, oligopéptidos, y/o polipéptidos), y/o proteínas, vitaminas, minerales y elementos traza. La selección de la formulación particular del dipéptido arginina-glutamina depende del uso particular de la formulación. La administración del dipéptido arginina-glutamina, en lugar de la administración de los aminoácidos libres, permite la administración de la misma



cantidad de residuos de aminoácidos en soluciones, las cuales son menos hipertónicas y, por ende, de menor osmolalidad.

[00031] En la presente revelación, el dipéptido arginina-glutamina se le puede administrar por vía enteral a un neonato. En una modalidad de la revelación, el dipéptido arginina-glutamina aquí descrito puede reducir la lesión intestinal que se asocia con la administración enteral, protegiendo así la integridad estructural del intestino. Tal como se usa en este contexto, "lesión intestinal" incluye inflamación, daño celular, o cualquier otro evento que comprometa la integridad fisiológica del intestino.

[00032] La nutrición enteral es más segura y menos costosa que la nutrición parenteral total, que es la práctica de alimentar a una persona por vía intravenosa. La administración enteral es la vía preferida para mantener la integridad del tracto gastrointestinal. Cuando es posible, la administración oral es deseable, porque es el método normal de la nutrición de los bebés y es entendido y aceptado por el bebé y las personas que le proveen la nutrición al bebé.

[00033] La administración enteral del presente dipéptido arginina-glutamina puede tener lugar por cualquier método reconocido y en cualquier momento. Las formulaciones que contienen los agentes activos se pueden dar una vez al día o múltiples veces al día. La administración de formulaciones que contienen el presente dipéptido arginina-glutamina se puede alternar con la administración de formulaciones que no contienen el presente dipéptido arginina-glutamina, o formulaciones que contienen el presente dipéptido en niveles diferentes de los que proporciona el dipéptido arginina-glutamina al bebé en una cantidad total de cerca de 100 mg/kg/día hasta cerca de 1000 mg/kg/día.

[00034] El dipéptido arginina-glutamina de la presente revelación puede ser administrado por vía enteral a un neonato en cualquier forma o manera conocida y aceptada. Una modalidad de la presente revelación es una composición que puede ser una leche maternizada para bebé, un enriquecedor de la leche humana, o un suplemento nutricional o alimenticio y combinaciones de los mismos.

[00035] La leche maternizada para bebé, el enriquecedor de la leche humana, o el suplemento nutricional de la presente revelación pueden ser a base de leche, a base de soya, a base de otras fuentes de alimento, o combinaciones de los mismos. La composición se puede preparar como un polvo y/o un líquido para

leches maternizadas preparadas para poblaciones de bebés. Si viene en forma de polvo o forma de líquido concentrado, la leche maternizada se diluye hasta la potencia normal con agua para que quede en una forma lista para consumir. La composición de la invención se puede preparar como una dieta nutricionalmente completa mediante la inclusión de los nutrientes necesarios como vitaminas y minerales en niveles aceptables. La composición de la invención puede estar en la forma de un producto alimenticio como una leche maternizada para bebé, sustituto de la leche, y/o reemplazo o suplemento de las comidas.

[00036] Una modalidad de la revelación es un suplemento nutricional o alimenticio que contiene el dipéptido arginina-glutamina o un precursor del mismo. El suplemento alimenticio está diseñado para ser administrado junto con una composición alimenticia o nutricional, como leche maternizada para bebé y puede o bien mezclarse con la composición alimenticia o nutricional antes de ser ingerido por el sujeto, o se le puede administrar al sujeto bien sea antes o después de la ingestión de una composición alimenticia o nutricional. El suplemento alimenticio de la invención contiene una cantidad de dipéptido arginina-glutamina, o un precursor del mismo, que es efectiva para soportar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso.

[00037] La cantidad del dipéptido arginina-glutamina o su sal o prodroga que es una cantidad efectiva es una cantidad suficiente para evocar la respuesta fisiológica deseada. Generalmente es una cantidad suficiente para producir el aminoramiento de uno o más de los efectos de neurodegeneración apoptoica o morbilidad neurológica, reducir el riesgo de que sobrevenga la NEC, influir positivamente sobre la vascularización normal de la retina y/o tener un efecto prohibitivo sobre el riesgo de que sobrevenga la ROP. En el caso de la neurodegeneración apoptoica, se trata de una cantidad suficiente para reducir la morbilidad neurológica y/o para respaldar el desarrollo cognitivo y de la motricidad normal en los bebés prematuros y/u otros bebés que por lo demás sean susceptibles a sufrir déficits neurológicos en el periodo postnatal inmediato.

[00038] En una modalidad de la presente revelación, el dipéptido arginina-glutamina se administra a un neonato en una cantidad que puede ser de cerca de 0,001 a cerca de 10,000 mg/kg/día (en donde las unidades de mg/kg/día se refieren a mg del dipéptido arginina-glutamina por kg de peso corporal del bebé por día). La cantidad efectiva también puede ir desde cerca de 100 mg/kg/día



hasta cerca de 1000 mg/kg/día, o desde cerca de 200 mg/kg/día hasta cerca de 800 mg/kg/día, o desde cerca de 250 mg/kg/día hasta cerca de 600 mg/kg/día, o desde cerca de 300 mg/kg/día hasta cerca de 600 mg/kg/día, o desde cerca de 300 mg/kg/día hasta cerca de 500 mg/kg/día, o en una cantidad de cerca de 500 mg/kg/día. Aquí, la cantidad de los ingredientes activos por peso se refiere a la cantidad de la combinación equimolar del dipéptido arginina-glutamina, o la cantidad de sus sales o precursores suficientes para proporcionar la cantidad declarada del dipéptido.

[00039] En una modalidad, una leche maternizada novedosa para bebé que contiene el presente dipéptido arginina-glutamina, o un precursor del mismo, es nutricionalmente completa. Por el término “nutricionalmente completa” se entiende que la composición contiene los nutrientes adecuados para sostener una vida humana saludable durante periodos prolongados. La leche maternizada para bebé de la revelación contiene ingredientes que han sido diseñados para satisfacer las necesidades nutricionales del bebé humano, a saber, una fuente de grasas, proteínas, carbohidrato y lípidos, un estabilizador y otros nutrientes como vitaminas y minerales.

[00040] Además del dipéptido de la invención, la composición de la revelación pueden contener una fuente adicional de nitrógeno (es decir, aminoácidos y/o proteína) de manera que la cantidad total de aminoácidos o proteína puede estar entre cerca de 1 g/100 kilocalorías (kcal) y cerca de 10 g/100 kcal de composición total, en algunas modalidades cerca de 2 g/100 kcal a cerca de 6 g/100 kcal. La cantidad de fuente de lípido por 100 kcal de composición total puede ser más de 0 g hasta cerca de 6 g, en algunas modalidades cerca de 0,5 g a cerca de 5,5 g y en otras modalidades cerca de 2 g a cerca de 5,5 g; y la cantidad de fuente de carbohidratos diferente de la fibra por 100 kcal de composición total puede ser de cerca de 5 g a cerca de 20 g y en algunas modalidades puede ser de cerca de 7,5 g a cerca de 15 g.

[00041] Tal como se usa en este contexto, la leche maternizada para bebé de la invención no tiene por objeto incluir leche natural, como leche de vaca sin modificar, leche de cabra sin modificar, leche materna humana sin modificar, o cualquier otro producto natural sin modificar, sino que más bien se refiere a una formulación creada por el hombre en todo o en parte mediante la mezcla de dos o más ingredientes. Así las cosas, el término “leche maternizada para bebé” significa

16

una composición que satisface los requerimientos nutricionales de un bebé al ser un sustituto de la leche materna humana. En una modalidad particular, la leche maternizada para bebé, el enriquecedor de la leche humana o el suplemento nutricional para bebés viene en forma de polvo. En otras modalidades, la leche maternizada para bebé, el enriquecedor de la leche humana o el suplemento nutricional para bebés puede venir en forma líquida o lista para usar.

[00042] En una modalidad, la leche maternizada para bebé para usar en la presente revelación es nutricionalmente completa y contiene tipos y cantidades adecuados de lípidos, grasas, carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. La cantidad de lípido o grasa típicamente puede variar de cerca de 3 a cerca de 7 g/100 kcal. La cantidad de proteína típicamente puede variar de cerca de 1 a cerca de 5 g/100 kcal. La cantidad de carbohidrato típicamente puede variar de cerca de 8 a cerca de 12 g/100 kcal.

[00043] Cuando se incluye una fuente adicional de proteínas en la leche maternizada para bebé de la invención, esta puede ser provenir de sólidos no grasos de la leche, una combinación de sólidos no grasos de la leche y proteínas del suero, un hidrolizado parcial de leche descremada y/o sólidos del suero, aislados de la proteína de soya, o aislados de la proteína de soya parcialmente hidrolizados. La leche maternizada para bebé puede ser predominante en caseína o predominante en suero.

[00044] La fuente de carbohidratos en la leche maternizada para bebé puede ser cualquier carbohidrato adecuado conocido del estado de la técnica por ser adecuado para usar en la leche maternizada para bebés. Las fuentes de carbohidratos típicas incluyen sacarosa, fructosa, glucosa, maltodextrina, lactosa, jarabe de maíz, sólidos del jarabe de maíz, sólidos del jarabe de arroz, almidón de arroz, almidón de maíz modificado, almidón de tapioca modificado, harina de arroz, harina de soya y similares.

[00045] La fuente de lípidos en la leche maternizada para bebé puede ser cualquier lípido o grasa conocido del estado de la técnica por ser adecuado para usar en la leche maternizada para bebés. Las fuentes de lípidos típicas incluyen crema de leche, aceite de cártamo, lípidos de la yema del huevo, aceite de oliva, aceite de coco, aceite de palma, aceite de frutos de palma, aceite de soya, aceite de girasol, aceite de pescado y fracciones derivadas de los mismos como

palmoleína, triglicéridos de cadena mediana (MCT) y ésteres de ácidos grasos que se caracterizan porque los ácidos grasos son, por ejemplo, ácido araquidónico, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido docosahexaenoico, ácido eicosapentaenoico, ácido linolénico, ácido oleico, ácido láurico, ácido cáprico, ácido caprílico, ácido caproico y similares. Las formas oleicas altas de diversos aceites también se contemplan como útiles aquí como aceite de girasol alto oleico y aceite de cártamo alto oleico. Los MCT contienen concentraciones más altas de ácido caprílico y ácido cáprico que las que típicamente se encuentran en aceites convencionales como, p.ej., aproximadamente tres cuartas partes del contenido total de ácidos grasos es ácido caprílico y una cuarta parte es ácido cáprico.

[00046] La leche maternizada para bebé de la revelación también puede contener emulsionantes y estabilizadores como lecitina de soya, carragenina, combinaciones de los mismos y similares.

[00047] La leche maternizada para bebé de la revelación opcionalmente puede contener otras sustancias que pueden tener efectos beneficiosos como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos, inmunoglobulinas, combinaciones de los mismos y similares.

[00048] La osmolalidad de la leche maternizada líquida para bebé de la revelación (cuando está lista para consumir) puede ser de entre cerca de 100 y 1100 mOsm/kg H₂O, en algunas modalidades, entre cerca de 200 y 700 mOsm/kg H₂O.

[00049] La leche maternizada para bebé de la revelación puede ser esterilizada, si se desea, por métodos conocidos del estado de la técnica como, por ejemplo, tratamiento con calor como autoclave o retorta y similares.

[00050] La leche maternizada para bebé de la revelación puede ser empacada en cualquier tipo de recipiente conocido del estado de la técnica para almacenar productos nutricionales como vidrio, cartulina forrada, plástico, latas metálicas recubiertas y similares.

[00051] La leche maternizada para bebé de la revelación deberá tener una vida útil estable después de la reconstitución. Por "vida útil estable" se entiende que la leche maternizada, en una forma lista para consumir, permanece en la misma fase homogénea (es decir, no se separa en más de una fase a la inspección visual) o

18

que el espesante no se decante en forma de sedimento a la inspección visual después de almacenamiento durante la noche en el refrigerador. Dada la naturaleza espesada del producto, la leche maternizada de la revelación también tiene ventaja de permanecer fluida (es decir, no gelificarse en una masa sólida cuando se almacena durante la noche en el refrigerador).

[00052] De forma conveniente, se puede usar una leche maternizada para bebé comercialmente disponible. Por ejemplo, los productos Enfalac™, Enfamil®, Enfamil® Premature Formula, Enfamil® con hierro, Enfamil® LIPIL®, Lactofree®, Nutramigen®, Pregestimil® y ProSobee® (disponibles de Mead Johnson & Company, Evansville, IN, EUA) se pueden suplementar con cantidades apropiadas del dipéptido arginina-glutamina y usarlos en la práctica de la revelación.

[00053] En algunas modalidades de la revelación, la leche maternizada para bebé, el enriquecedor de la leche humana, o el suplemento nutricional para bebés contienen componentes adicionales que pueden incluir probióticos, prebióticos, o ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga adicionales (LCPUFA). El término "probiótico" significa un microorganismo que ejerce efectos beneficiosos sobre la salud del huésped. Se puede añadir cualquier probiótico conocido del estado de la técnica, siempre y cuando sea apropiado para combinarlo con los demás componentes del suplemento. Por ejemplo, el probiótico se puede escoger de entre el grupo compuesto por *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Como alternativa, el probiótico puede ser *Lactobacillus rhamnosus* GG.

[00054] En ciertas modalidades, la leche maternizada para bebé, el enriquecedor de la leche humana o el suplemento nutricional para bebés de la presente revelación además comprende por lo menos un prebiótico. El término "prebiótico", tal como se usa en este contexto, significa un ingrediente indigerible de los alimentos que estimula el crecimiento y/o la actividad de los probióticos. En esta modalidad se puede añadir cualquier prebiótico conocido del estado de la técnica, siempre y cuando sea apropiado para combinarlo con los demás componentes del suplemento. En una modalidad particular, el prebiótico se puede seleccionar de entre el grupo compuesto por povidex, fructo-oligosacárido, gluco-oligosacárido, galacto-oligosacárido, inulina, isomalto-oligosacárido, xilo-oligosacárido, lactulosa y combinaciones de los mismos.

[00055] En modalidades particulares, los LCPUFA pueden ser ácido docosahexaenoico (DHA), ácido araquidónico (ARA), y/o ácido eicosapentaenoico (EPA). Si se usa, la cantidad de ARA en la presente revelación puede ser de cerca de 4 mg/100 kcal a cerca de 100 mg/100 kcal. En otra modalidad, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 10 mg/100 kcal a cerca de 67 mg/100 kcal. Todavía en otra modalidad, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 20 mg/100 kcal a cerca de 50 mg/100 kcal. En una modalidad particular, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 25 mg/100 kcal a cerca de 40 mg/100 kcal. En una modalidad, la cantidad de ARA es cerca de 30 mg/100 kcal.

[00056] Si se administra como parte de la presente revelación, la proporción en peso de ARA: DHA puede ser de cerca de 1:3 a cerca de 9:1. En una modalidad de la presente revelación, esta proporción es de cerca de 1:2 a cerca de 4:1. Todavía en otra modalidad, la proporción es desde cerca de 2:3 a cerca de 2:1. En una modalidad particular la proporción es de cerca de 2:1. En otra modalidad particular de la revelación, la proporción es de cerca de 1:1,5. En otras modalidades, la proporción es de cerca de 1:1,3. Todavía en otras modalidades, la proporción es de cerca de 1:1,9. En una modalidad particular, la proporción es de cerca de 1,5:1. En una modalidad adicional, la proporción es de cerca de 1,47:1.

[00057] Si se administra como parte de la presente revelación, el nivel de DHA puede estar entre cerca de 0,0% y 1,00% de ácidos grasos, por peso. En otras modalidades, el nivel de DHA puede ser de cerca de 0,32% por peso. En algunas modalidades, el nivel de DHA puede ser de cerca de 0,33% por peso. En otra modalidad, el nivel de DHA puede ser de cerca de 0,64% por peso. En otra modalidad, el nivel de DHA puede ser de cerca de 0,67% por peso. Todavía en otra modalidad, el nivel de DHA puede ser de cerca de 0,96% por peso. En una modalidad adicional, el nivel de DHA puede ser de cerca de 1,00% por peso.

[00058] Si se administra como parte de la presente revelación, el nivel de ARA puede ser de entre 0,0% y 0,67% de ácidos grasos, por peso. En otra modalidad, el nivel de ARA puede ser de cerca de 0,67% por peso. En otra modalidad, el nivel de ARA puede ser de cerca de 0,5% por peso. Todavía en otra modalidad, el nivel de DHA puede ser entre cerca de 0,47% y 0,48% por peso.

[00059] Si se administra como parte de la presente revelación, la cantidad de DHA puede ser de cerca de 2 mg/100 kcal a cerca de 100 mg/100 kcal. En otra

modalidad, la cantidad de DHA puede ser de cerca de 5 mg/100 kcal a cerca de 75 mg/100 kcal. Todavía en otra modalidad, la cantidad de DHA puede ser de cerca de 15 mg/100 kcal a cerca de 60 mg/100 kcal.

[00060] Si se administra como parte de la presente revelación, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 4 mg/100 kcal a cerca de 100 mg/100 kcal. En otra modalidad, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 10 mg/100 kcal a cerca de 67 mg/100 kcal. Todavía en otra modalidad, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 20 mg/100 kcal a cerca de 50 mg/100 kcal. En una modalidad particular, la cantidad de ARA puede ser de cerca de 25 mg/100 kcal a cerca de 40 mg/100 kcal. En una modalidad, la cantidad de ARA es cerca de 30 mg/100 kcal.

[00061] Si se administra como parte de la presente revelación, la cantidad efectiva de DHA puede ser de cerca de 3 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 150 mg por kg de peso corporal por día. En una modalidad de la revelación, la cantidad es desde cerca de 6 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 100 mg por kg de peso corporal por día. En otra modalidad la cantidad es desde cerca de 15 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 60 mg por kg de peso corporal por día.

[00062] Si se administra como parte de la presente revelación, la cantidad efectiva de ARA puede ser de cerca de 5 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 150 mg por kg de peso corporal por día. En una modalidad de la presente revelación, la cantidad varía de cerca de 10 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 120 mg por kg de peso corporal por día. En otra modalidad, la cantidad varía de cerca de 15 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 90 mg por kg de peso corporal por día. Todavía en otra modalidad, la cantidad varía de cerca de 20 mg por kg de peso corporal por día a cerca de 60 mg por kg de peso corporal por día.

[00063] La fuente de LCPUFA puede contener o no EPA. En algunas modalidades, los LCPUFA que se usan en la revelación contienen poco o ningún EPA. Por ejemplo, en ciertas modalidades la leche maternizada para bebés que se usa en este contexto contiene menos de cerca de 20 mg/100 kcal de EPA; en algunas modalidades menos de cerca de 10 mg/100 kcal de EPA; en otras modalidades menos de cerca de 5 mg/100 kcal de EPA; y todavía en otras modalidades sustancialmente ninguna cantidad de EPA.

[00064] Si la composición de la revelación se suplementa con aceites que contienen LCPUFA, se puede lograr usando métodos estándar conocidos del estado de la técnica. Por ejemplo, una cantidad equivalente de un aceite que normalmente está presente en una composición, como aceite de girasol alto oleico, se puede reemplazar por los LCPUFA. Si se utilizan, la fuente de los LCPUFA puede ser cualquiera de las conocidas del estado de la técnica como aceite marino, aceite de pescado, aceite de célula única, lípidos de la yema del huevo, lípidos cerebrales y similares. Los LCPUFA pueden estar en forma natural o en forma refinada.

[00065] La revelación proporciona un producto comercialmente aceptable en términos de estabilidad y características físicas deseadas y el producto demuestra poco o ningún subproducto de efecto de ennegrecimiento observable asociado con la reacción de Maillard. Además, la composición de la invención permanece sustancialmente homogénea durante un periodo aceptable después de la reconstitución (o durante la vida útil si se prepara como un líquido). La revelación puede ser particularmente útil para preparaciones de leche maternizada para bebé para dar soporte al desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso, aunque es igualmente aplicable a otras dietas elementales específicas para una población seleccionada en riesgo de neurodegeneración apoptótica, ROP y/o NEC.

[00066] Ahora se hará referencia en detalle a las modalidades de la revelación, uno o más ejemplos de las cuales se expresan a continuación. Cada ejemplo se da a manera de explicación de la revelación, no de limitación de la revelación. En efecto, será aparente para la persona medianamente versada en la técnica que se le pueden hacer diversas modificaciones y variaciones a la presente revelación sin apartarse del alcance o el espíritu de la misma. Por ejemplo, las características que se ilustran o describen como parte de una modalidad se pueden usar en otra modalidad para dar todavía otra modalidad. Así pues, se pretende que la presente revelación cubra aquellas modificaciones y variaciones que caigan dentro del alcance de las reivindicaciones anexas y sus equivalentes. Otros objetos, características y modalidades de la presente revelación se revelan o resultan evidentes en la siguiente descripción detallada. La persona medianamente versada en la técnica entenderá que la presente discusión es una descripción de modalidades ejemplares únicamente y no es su intención limitar las modalidades más amplias de la presente revelación.

EJEMPLO 1

[00067] Este ejemplo ilustra la eficacia de la administración enteral del dipéptido arginina-glutamina para la prevención de la retinopatía de la prematurez en un modelo de retinopatía inducida por oxígeno en ratones.

[00068] Todos los animales son tratados de conformidad con la "Declaración sobre el uso de animales en investigación oftalmológica y visual" de ARVO. Los procedimientos en animales fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee de la Universidad de Florida.

[00069] Se obtuvieron hembras preñadas de la cepa de ratones C57BL6/J de Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). Los animales fueron alojados en las instalaciones de Cuidados Animales del Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Florida. Las ratonas preñadas dieron a luz las crías que se usaron para los experimentos.

[00070] El propósito general de los experimentos en animales es establecer la seguridad, el intervalo de dosificación adecuado y la eficacia antes de la evaluación en neonatos humanos en riesgo de retinopatía de la prematurez. Dado que el propósito último del dipéptido arginina-glutamina es proporcionar una preparación segura y de fácil absorción que se pueda usar para proporcionar niveles nutricionales adecuados de arginina y glutamina a bebés humanos que podrían no recibir cantidades apropiadas de estos aminoácidos en la dieta, las dosificaciones que se dan en los estudios en animales se modelan para simular la ingestión recomendada en el recién nacido prematuro.

[00071] En el modelo de retinopatía inducida por oxígeno en ratones neonatos, los ratones de 7 días de nacidos ratones se dejan con sus madres que los amamantan en una atmósfera con 75% de oxígeno durante 5 días. Las crías reciben alimentación dos veces al día por sonda gástrica de dipéptido arginina-glutamina o solución de control (50 µL) comenzando en el día postnatal 12 (P12) y continuando hasta el día postnatal 17 (P17). Las alimentaciones por sonda gástrica incluyen un control (cloruro sodio al 0,9%) y los compuestos de prueba y diferentes dosis del dipéptido arginina-glutamina (1,0, 2,5 y 5 g/kg/día). La dosificación diaria del dipéptido se divide equitativamente entre las dos alimentaciones diarias por sonda gástrica.

3

[00072] Después del quinto día del regreso a la normoxia (P17), los animales son sacrificados por inyección de una dosis letal de una combinación de quetamina (70 mg/kg de peso corporal) y xilacina (15 mg/kg de peso corporal) seguido de dislocación cervical. Los ojos se extraen y se fijan en paraformaldehído al 4%, es embeben en parafina y se seccionan. Observadores que obran a ciegas sobre el tratamiento hacen el recuento de los núcleos prerretinianos. La eficacia del tratamiento se calcula como el porcentaje promedio de núcleos por corte en los ojos de los animales tratados con el dipéptido arginina-glutamina frente a los animales de control.

[00073] Para los aislamientos de ARN total de la retina, los animales son sacrificados y los ojos se extraen. La retina es se diseca y se almacena en amortiguador RNeasy® (Ambion, Austin, TX) a 4°C para el aislamiento subsiguiente de las proteínas o el ARN.

[00074] Algunos de los ojos se usan para análisis cualitativo de montajes planos de retina. En el momento de la eutanasia estos ratones son perfundidos con dextrano marcado con isotiocianato de fluoresceína para visualizar la vasculatura. Los ojos se enuclean y se incuban en formaldehído al 4% y luego en medio de cultivo celular de solución salina con amortiguador de fosfato. La retina neurológica se diseca del complejo formado por el epitelio pigmentario de la retina y la esclera corioidea y se hacen montajes planos con cuatro a siete cortes radiales y se examina y fotografía por separado usando el microscopio confocal (con un MRC-1024 Confocal Laser Scanning System de Bio-Rad, Hercules, CA).

[00075] Los resultados de la administración enteral del dipéptido arginina-glutamina se ilustran en la Fig. 1, que es una gráfica de barras que muestra los núcleos promedio por sección en los ojos de ratones neonatos expuestos a hiperoxia en función de la dosificación del dipéptido arginina-glutamina, con niveles de dosificación de: cero (control); 1 g/kg/día; 2,5 g/kg/día; y 5 g/kg/día. El número más alto de núcleos corresponde a una mayor proliferación vascular en la retina y por tanto a retinopatía. Un número menor de núcleos, por lo tanto, indica un desenlace más favorable. En la Fig. 1 se puede ver que el número promedio de núcleos por sección disminuyó en todos los niveles de administración del dipéptido en comparación con los sujetos que recibieron solamente el control. Se mostró una dosis/respuesta reconocible para dosificaciones del dipéptido entre 1 g/kg/día y 5 g/kg/día y el nivel más alto de eficacia se demostró con 5 g/kg/día.

EJEMPLO 2

[00076] Este ejemplo ilustra la eficacia de administración enteral del dipéptido arginina-glutamina en la protección contra la lesión intestinal y cerebral inducida por la hiperoxia en un modelo de ratón.

[00077] La cepa C57BL6/J de ratonas con preñez programada se obtuvo de Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME). Los ratones fueron alojados en las instalaciones de Cuidados Animales del Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Florida.

[00078] En el modelo en ratones neonatos de retinopatía inducida por oxígeno, los ratones de 7 días de nacidos se dejan con sus madres que los amamantan en una atmósfera con 75% de oxígeno durante 5 días. Las crías reciben alimentación dos veces al día por sonda gástrica de dipéptido arginina-glutamina o solución de control (20 µL) comenzando en el día postnatal 12 (P12) y continuando hasta el día postnatal 17 (P17). En un experimento se ponen a prueba diferentes dosificaciones de dipéptido arginina-glutamina (1,0, 2,5 y 5 g/kg/día como sal clorhidrato, Bachem, Babendorf, Suiza). En un segundo experimento se da el dipéptido arginina-glutamina (5 g/kg/día) y se usa un grupo de normoxia como control.

[00079] Después del quinto día que sigue al regreso a la normoxia (P17), los animales son sacrificados por inyección de una dosis letal de una combinación de quetamina (70 mg/kg de peso corporal) y xilacina (15 mg/kg de peso corporal) seguida de dislocación cervical.

[00080] La actividad total de mieloperoxidasa tisular (MPO), para medir la acumulación en los neutrófilos y un marcador de lesión tisular, se determina por medio de un procedimiento enzimático estándar. En pocas palabras, se homogenizan muestras de intestino en hielo en amortiguador de KH_2PO_4 0,01 M. Después de centrifugar a 10.000 g durante 20 minutos a 4°C, los gránulos se resuspenden por sonicación en amortiguador de bromuro de cetiltrimetilamonio (13,7 mM CTAB, 50 mM KH_2PO_4 y 50 mM ácido acético, pH 6,0). El sobrenadante se reserva para análisis. La suspensión se centrifugó de nuevo a 10.000 g durante 15 minutos y el sobrenadante se incubó entonces en baño de agua a 60°C durante 2 horas. La concentración de MPO del sobrenadante se mide por la oxidación dependiente de H_2O_2 de tetrametilbencidina. La absorbancia se determina at 650

5

nm y se compara con una curva lineal estándar. La cantidad de proteína se mide usando la prueba BioRad Dc Protein Assay (Carlsbad, CA).

[00081] Los niveles de Bcl-2 se determinan usando técnicas de inmunotransferencia estándar. El cerebro se homogenizó con un aparato Politron y los homogenatos se almacenan en alícuotas a -80°C. Se lleva a cabo electroforesis en gel usando el sistema de electroforesis BioRad (Carlsbad, CA). Las muestras de proteína intestinal y los estándares de proteína preteñida Kaleidoscope (BioRad, Carlsbad, CA) se cargan en un gel prevaciado de acrilamida al 12,5% (p/v) Criterion (BioRad, Carlsbad, CA) y se corre la electroforesis a 100 voltios durante cerca de 2 horas. Las bandas de proteína son electrotransferidas sobre una membrana de fluoruro de polivinilo (PVDF) (Millipore Corporation, Bedford, MA) a 100 voltios durante 1 hora. La visualización de las bandas de proteína se realiza coloreando la membrana con negro de amida. Las membranas de PVDF son bloqueadas durante 1 hora en leche seca descremada al 5% (p/v) (NFDM) en salina con amortiguador Tris que contiene Tween-20 al 0,1% (TBST) (Fisher Scientific, Atlanta, GA). Usando NFDM-TBST fresca, las membranas se incuban con anticuerpos anti-Bcl-2 de conejo (Santa Cruz, CA), a una dilución de 1:1000 durante la noche a 4°C con mecido suave. La membranas se lavan con múltiples cambios de TBST y a continuación se incuban con un anticuerpo secundario de cabra anti-conejo conjugado con peroxidasa del rábano picante. Entonces se aplica ECL-Plus™, un sustrato de fragancia de quimioluminiscencia (General Electric Healthcare, Piscataway, NJ), a la membrana y se incuba durante 5 minutos a temperatura ambiente. Las bandas de proteína se visualizan por exposición de la membrana a una película de imágenes científicas X-OMAT (Eastman- Kodak Corporation, Rochester, NY), seguido de desarrollo usando un procesador Kodak M35A X-OMAT (Kodak Diagnostic Imaging Inc., Rochester, NY). Las bandas de proteína se cuantifican por densitometría.

[00082] La lesión intestinal se evalúa usando técnicas histológicas. Una porción del íleo se fija en formol amortiguado neutro al 10% (p/v) durante 24 horas para microscopía de luz. El intestino se embebe en parafina, se corta en secciones de 4 µm, se monta sobre láminas portaobjeto y se colorea con hematoxilina y eosina siguiendo los procedimientos estándar. Los análisis histológicos se llevan a cabo usando un sistema de puntuación de daño que va de 0 a 4+ (0 = no daño, 4 = daño grave con esfacelo de la mucosa) para determinar la gravedad de la lesión intestinal.

[00083] La actividad de caspasa-3 se determina usando un kit de determinación de actividad de Caspasa-3 por colorimetría (Chemicon International, Inc., Temecula, CA). El cerebro se homogeniza con un aparato Politron y los homogenatos se almacenan en alícuotas a -80°C.

[00084] Con respecto al desarrollo del intestino, los resultados de la administración del dipéptido arginina-glutamina se ilustran en la Fig. 2, que es una gráfica de barras que muestra la puntuación de daño intestinal bajo tres condiciones diferentes: Control; condiciones de hiperoxia; y condiciones de hiperoxia combinadas con tratamiento con el dipéptido arginina-glutamina. La puntuación de daño se redujo cuando al sujeto se le administró el dipéptido arginina-glutamina. El dipéptido arginina-glutamina confirió protección contra la lesión intestinal con una puntuación de daño promedio de 1,67. La puntuación de daño promedio del intestino expuesto a condiciones de hiperoxia fue de 3,5.

[00085] En lo que respecta al desarrollo del sistema nervioso, los resultados de la administración del dipéptido arginina-glutamina se ilustran en las Figs. 3 y 4. La Fig. 3 es una gráfica de barras que muestra un aumento de la expresión de Bcl-2 de 33% en un cerebro de ratón tratado con dipéptido arginina-glutamina y expuesto a condiciones de hiperoxia. La Fig. 4 muestra una reducción del 32% en la actividad cerebral de la caspasa-3 en comparación con lo que sucede en ratones hiperóxicos.

[00086] Todas las referencias citadas en la presente especificación, incluidos, pero sin limitación todos los artículos, publicaciones, patentes, solicitudes de patente, presentaciones, textos, informes, manuscritos, folletos, libros, publicaciones en internet, artículos de revista, publicaciones periódicas y similares, se incorporan a la presente especificación en su integridad mediante referencia. La discusión de las referencias que aparecen aquí tiene por objeto simplemente resumir las aseveraciones hechas por sus autores y no se hace ninguna admisión de que alguna referencia constituya estado de la técnica. Los solicitantes se reservan el derecho de controvertir la exactitud y pertinencia de los antecedentes citados.

[00087] En vista de lo anterior, se verá que las varias ventajas de la revelación se logran y que se obtienen otros resultados provechosos.

27

[00088] Como se podrían hacer varios cambios a los métodos y composiciones arriba mencionados por parte de personas medianamente versadas en la materia técnica correspondiente sin apartarse del alcance de la revelación, se pretende que todo el objeto contenido en la anterior descripción y que se ilustra en los dibujos acompañantes sea interpretado como ilustrativo y no en un sentido limitante. Además, se entenderá que las diversas modalidades se pueden intercambiar en todo y en parte.

28

REIVINDICACIONES

Lo que se reivindica es:

1. Un método para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato, el cual método comprende la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina a un neonato para proporcionar una cantidad de dipéptido arginina-glutamina que es efectiva para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la cantidad total de dipéptido arginina-glutamina administrada es de cerca de 100 mg/kg/día a cerca de 1000 mg/kg/día.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el neonato tiene necesidad de soporte de uno o más de entre desarrollo del intestino, desarrollo del sistema nervioso y desarrollo de la retina.
4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el neonato es un bebé prematuro.
5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el neonato es un bebé postmaduro.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el neonato es un bebé recién nacido a término.
7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina comprende administrarle al neonato leche maternizada líquida para bebé que contiene dipéptido arginina-glutamina.
8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, que se caracteriza porque la leche maternizada líquida para bebé es nutricionalmente completa.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina comprende administrarle al neonato un suplemento nutricional que contiene el dipéptido arginina-glutamina.

10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que se caracteriza porque el neonato tiene necesidad de tratamiento hiperóxico.
11. Una leche maternizada para bebé que comprende el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.
12. La leche maternizada para bebé de acuerdo con la reivindicación 11, que se caracteriza porque la leche maternizada para bebé comprende el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad total para proporcionar el dipéptido arginina-glutamina a un neonato en una cantidad que va de cerca de 100 mg/kg/día a cerca de 1000 mg/kg/día.
13. La leche maternizada para bebé de acuerdo con la reivindicación 12, que se caracteriza porque la leche maternizada es un líquido en el cual la concentración del dipéptido arginina-glutamina es de cerca de 0,4 g/L a cerca de 5 g/L.
14. La leche maternizada para bebé de acuerdo con la reivindicación 12, que se caracteriza porque la leche maternizada para bebé es nutricionalmente completa y además comprende:
 - (a) una fuente de grasas;
 - (b) una fuente de carbohidratos;
 - (c) una fuente de lípido;
 - (d) un estabilizador; y
 - (e) una fuente de proteínas.
15. Un enriquecedor de la leche humana que comprende dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.
16. El enriquecedor de la leche humana de acuerdo con la reivindicación 15, que se caracteriza porque el enriquecedor de la leche humana comprende el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad total para proporcionar el dipéptido arginina-glutamina a un neonato en una cantidad de cerca de 100 mg/kg/día a cerca de 1000 mg/kg/día.

17. El enriquecedor de la leche humana de acuerdo con la reivindicación 16, que se caracteriza porque la concentración del dipéptido arginina-glutamina dará lugar a una concentración total del dipéptido arginina-glutamina de cerca de 0,4 g/L a cerca de 5 g/L en la leche materna humana.
18. Un suplemento nutricional para bebés que comprende el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad que es efectiva para respaldar el desarrollo de uno o más de entre la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato.
19. El suplemento nutricional para bebés de acuerdo con la reivindicación 18, que se caracteriza porque el suplemento nutricional para bebés comprende el dipéptido arginina-glutamina en una cantidad total para proporcionar el dipéptido arginina-glutamina a un neonato en una cantidad de cerca de 100 mg/kg/día a cerca de 1000 mg/kg/día.
20. El suplemento nutricional para bebés de acuerdo con la reivindicación 19, que se caracteriza porque la concentración del dipéptido arginina-glutamina dará lugar a una concentración total de dipéptido arginina-glutamina de cerca de 0,4 g/L a cerca de 5 g/L en el suplemento nutricional para bebés.

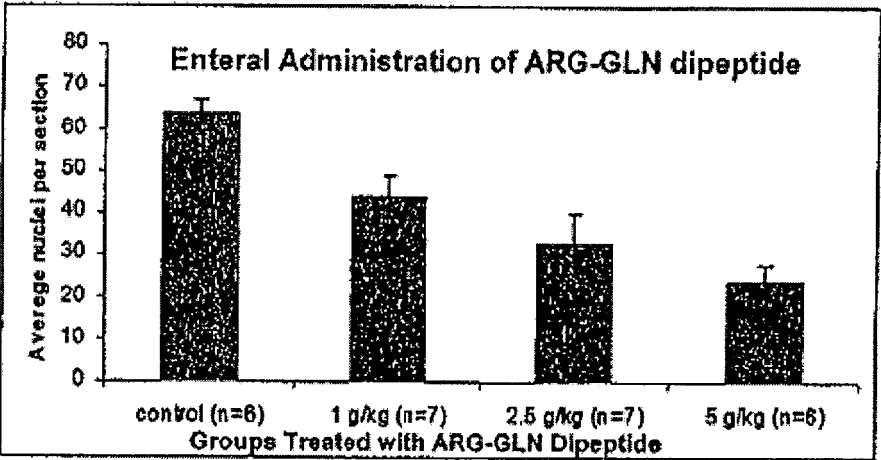
31

Resumen

Se proporciona un método novedoso para respaldar el desarrollo de la retina, el intestino o el sistema nervioso de un neonato. El método involucra la administración por vía enteral del dipéptido arginina-glutamina a un neonato.

2
m

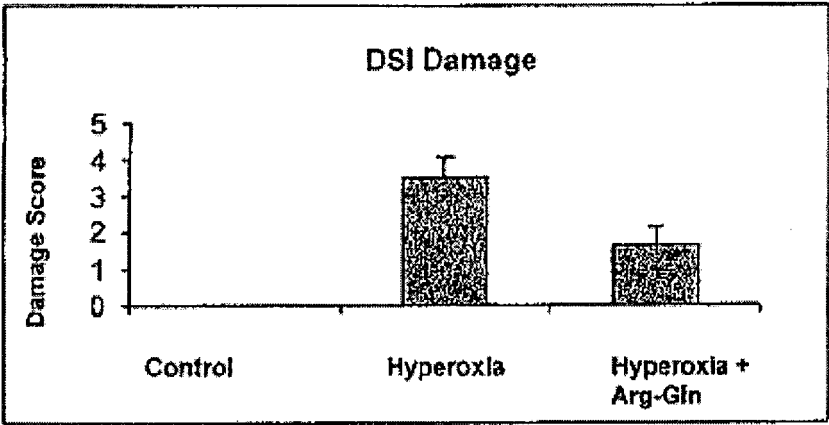
FIG. 1



Administración enteral del dipéptido ARG-GLN
Grupos tratados con el dipéptido ARG-GLN
Promedio de núcleos por corte

Horizontal
Vertical

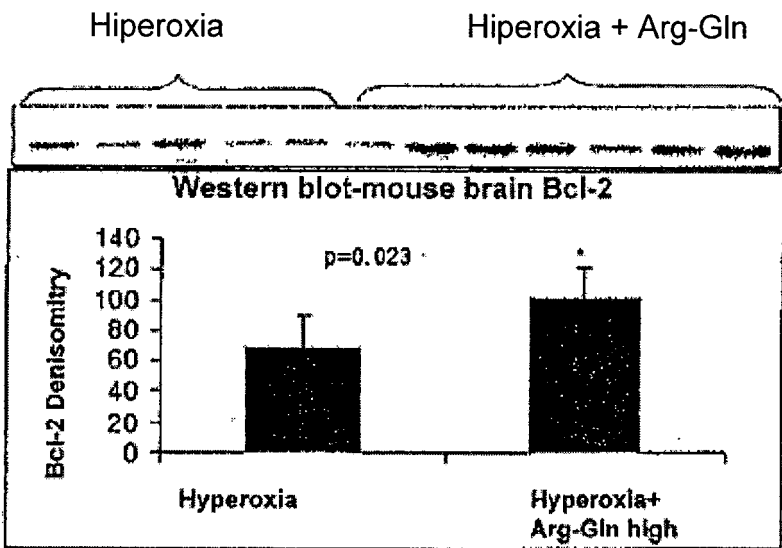
FIG. 2



Daño de DSI
Control Hiperoxia Hiperoxia + Arg-Gln
Puntuación de daño

Horizontal
Vertical

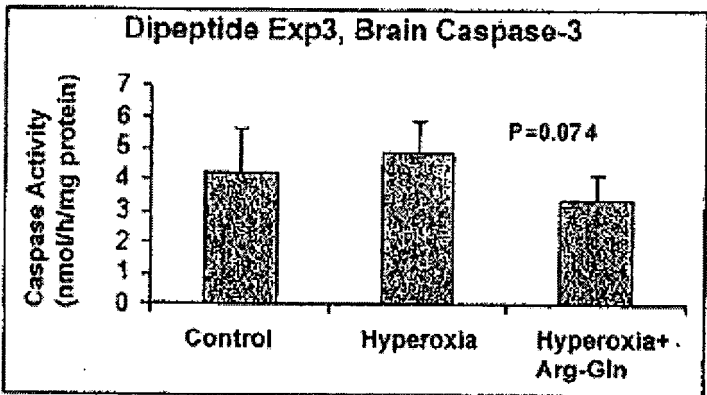
FIG. 3



Vertical

Densitometría de Bcl-2

FIG. 4



Vertical

Actividad de caspasa (nmol/h/mg de proteína)

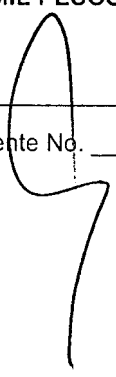
Horizontal

Control

Hiperoxia

Hiperoxia + Arg-Gln

34

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0033980	
				Bogotá D.C., Abril 09 de 2012 - 16:23:28	
RECIBIDO DE : CASTILLO GRAU & ASOCIADOS LTDA.				NI 800.098.704	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	468301831	09/04/2012	5.420.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	590.000.00	590.000.00	
				\$590.000.00	
			=====		
SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-057844- -00000-0000 Fecha: 2012-04-10 08:23:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 35					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
Abril 9 de 2012 - 16:23:29					

25

Castillo Grau & Asociados

ABOGADOS
APARTADO AEREO 251473
BOGOTA, COLOMBIA



No. 12-057844- -00000-0000

Fecha: 2012-04-10 08:23:29 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 35

LISTA DE CHEQUEO
ADMISIÓN A TRÁMITE – NUEVAS CREACIONES

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐ Incompleta ☐	

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☒ Incompleta ☐	

DISEÑO INDUSTRIAL ☐ (Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐ Incompleta ☐	

ESQUEMA DE TRAZADO ☐ (Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐ Incompleta ☐	