

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL Y MÉTODO PARA PROMOVER EL SUEÑO Y/O PARA TRATAR Y/O PREVENIR TRASTORNOS DEL SUEÑO

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona con una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos humanos (HMO, por sus siglas en inglés), o composiciones nutricionales que comprenden la combinación, para usar en la promoción del sueño y/o tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

La presente invención también se relaciona con el uso de una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos humanos (HMO), o composiciones nutricionales que comprenden la combinación, para usar en la promoción del sueño y/o tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

Además, la presente invención se relaciona con un método para promover el sueño y/o para tratar y/o prevenir trastornos del sueño en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una combinación o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los trastornos del sueño se refieren a afecciones médicas que afectan la calidad, el tiempo o la duración del sueño e impactan la capacidad de un sujeto para realizar sus actividades correctamente mientras está despierto. Son más de aproximadamente 80 tipos diferentes de

trastornos del sueño y entre los más frecuentes se encuentran insomnio, mala calidad del sueño, despertarse temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD, por sus siglas en inglés). Los trastornos del sueño pueden contribuir a otros problemas médicos como la obesidad y problemas físicos que pueden interferir con la vida cotidiana. En individuos sanos, las consecuencias a corto plazo incluyen una mayor respuesta al estrés, depresión por dolor, ansiedad y cognición, déficit de memoria y rendimiento. En adolescentes y niños, los trastornos del sueño pueden provocar un bajo rendimiento escolar y problemas de conducta (Medic G. et al. Nat Sci Sleep 2017; 9: 151-161).

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una hormona indoleamida secretada principalmente por la glándula pineal y liberada al torrente sanguíneo exclusivamente por la noche siguiendo el ritmo circadiano. La melatonina actúa como sincronizador del ritmo circadiano y antioxidante endógeno; es la principal hormona implicada en el control del ciclo sueño-vigilia. Se ha demostrado que la suplementación con melatonina por vía oral es un método seguro y efectivo para mejorar la latencia, duración, y calidad del inicio del sueño en niños (Chang YS et al. JAMA Pediatr. 2016; 170:35-42), en adolescentes (Barlett DJ et al. Med J Austr. 2013 ; 199 : S16-S20), adultos mayores (Lahteenmaki R et al. Br J Clin Pharmacol 2014; 77: 975-985) y mujeres posmenopáusicas (Amstrup AK et al. Nutr J. 2015; 14: 102). No obstante, la biodisponibilidad de las preparaciones de melatonina administradas por vía oral en el sujeto humano es limitada y variable (Lee BJ et al. Int J. Pharm. 1995; 124:119-127). Se demostró que la absorción de melatonina ocurre en todo el tracto gastrointestinal (GI), la mayor absorción es en el recto y el íleon y la menor en el estómago (Tran HT et al. Int J. Pharm. 2009; 378: 9-16). La absorción de melatonina se ve afectada por excipientes farmacéuticos (Tran HT et al. Int J. Pharm. 2009; 378: 9-16) y aún no se han definido claramente los rangos de dosis y preparaciones farmacéuticas más adecuadas para la administración de melatonina.

No existe una solución nutricional mostrada o disponible para aumentar de forma natural la síntesis de melatonina por la microbiota de un individuo, en particular para mejorar la calidad del sueño y/o tratar y/o prevenir los trastornos del sueño.

En consecuencia, existe la necesidad de proporcionar soluciones nutricionales capaces de mejorar el sueño y/o tratar y/o prevenir trastornos del sueño en un sujeto, por ejemplo, aumentando la producción de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto.

Ninguna referencia a los documentos de la técnica anterior en esta especificación debe considerarse como una admisión de que tal técnica anterior se conoce ampliamente o forma parte del conocimiento general común en el campo. Como se usa en esta especificación, las palabras “comprende”, “que comprende”, y palabras similares, no deben interpretarse en un sentido exclusivo o exhaustivo. En otras palabras, se destinan a que signifiquen “que incluyen, pero no se limitan a”.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los presentes inventores han encontrado sorprendentemente que una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) puede usarse ventajosamente para mejorar/promover el sueño y/o tratar y/o prevenir trastornos del sueño en un sujeto debido a que la combinación mostró una mayor biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto. Aunque algunas evidencias muestran que el tracto gastrointestinal puede ser una fuente de melatonina extrapineal, probablemente producida en las células enterocromafines ricas en serotonina de la mucosa GI (Bubenik GA Biol Signals Recept 2001; 10(6): 350-66), la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal no se conocía previamente. La melatonina no se complementa por vía oral, con lo que se evita el problema de definir con precisión la dosis adecuada. Además, la melatonina sintetizada por la microbiota intestinal puede suministrarse y absorberse eficientemente en todo el tracto gastrointestinal (Tran HT et al. Int J Pharm 2009; 378(1-2): 6-16) y de esta manera actuar sobre

el inicio del sueño, la latencia, la duración y la calidad. Por lo tanto, la invención proporciona una manera de aumentar la producción de un metabolito (es decir, melatonina) con beneficios conocidos sobre el sueño. La mezcla de los HMO consiste en 2'-FL y DFL o de LNT y 6'-SL. El impacto de una combinación de GOS y una mezcla de los HMO en la biosíntesis de melatonina no se conocía previamente.

En el experimento en la base de la presente invención, una combinación de GOS y 2'-FL y DFL o LNT y 6'-SL dio lugar a un aumento de la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal. Por lo tanto, el experimento indica el papel que jugó la combinación en la promoción de la biosíntesis de melatonina.

Un objetivo de la presente invención es mejorar el estado de la técnica y proporcionar una nueva combinación o composición nutricional, o al menos proporcionar una alternativa útil, para resolver al menos algunos inconvenientes descritos anteriormente.

El objeto de la presente invención se logra mediante la materia de las reivindicaciones independientes. Las reivindicaciones dependientes desarrollan además la idea de la presente invención.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente invención proporciona una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en la promoción del sueño y/o tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición nutricional que comprende una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en la promoción del sueño y/o en el tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para promover el sueño y/o para tratar y/o prevenir trastornos del sueño en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una combinación o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención para aumentar la producción de melatonina por la microbiota intestinal de un sujeto.

En algunas modalidades, el uso o el método de acuerdo con la invención es no terapéutico. Adecuadamente, el uso o el método es para aumentar la producción de melatonina por el intestino de un sujeto; para tratar y/o prevenir el insomnio, mala calidad del sueño, despertarse temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD) en un sujeto.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se usa para la promoción del sueño, por ejemplo, para mejorar la latencia de inicio del sueño, la calidad del sueño y la calidad del sueño.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se usa para el tratamiento de trastornos del sueño, por ejemplo, insomnio, mala calidad del sueño, despertar temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD).

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se usa para el tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se usa para el tratamiento del insomnio, mala calidad

del sueño, despertar temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD).

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se usa para la prevención de trastornos del sueño, por ejemplo, insomnio, mala calidad del sueño, despertar temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD).

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1 -Abundancia relativa de melatonina, expresada como área pico, después de 24 h de fermentación por la microbiota de un bebé de matriz láctea digerida suplementada con GOS, 2'FL/DFL, LNT/6'SL, GOS+2'FL/DFL o GOS+LNT/6'SL. Los puntos representan valores individuales, la línea está en la mediana, la caja son percentiles 25/75 y los bigotes en el rango mínimo/máximo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas.

Figura 2 - Abundancia relativa de melatonina, expresada como el logaritmo base-2 de la relación entre el valor de melatonina después de 24 h de fermentación por la microbiota de un bebé de matriz láctea digerida suplementada con GOS, 2'FL/DFL, LNT/6'SL, GOS+2'FL/DFL o GOS+LNT/6'SL, y el valor de melatonina obtenido después de la fermentación de la matriz láctea digerida sola. Los puntos representan valores individuales, la línea está en la mediana, la caja son percentiles 25/75 y los bigotes en el rango mínimo/máximo. Las letras diferentes denotan diferencias significativas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Definiciones

Las diversas características y modalidades preferidas de la presente invención se describirán ahora a manera de ejemplos no limitantes. La persona con experiencia entenderá que puede combinar todas las características de la invención descrita en la presente sin apartarse del alcance de la invención tal como se describe.

Ninguna referencia a los documentos de la técnica anterior en esta especificación debe considerarse como una admisión de que tal técnica anterior se conoce ampliamente o forma parte del conocimiento general común en el campo. Todas las publicaciones mencionadas en la especificación se incorporan en la presente como referencia.

En el contexto de la invención, los términos “que comprende” o “comprende” no excluyen otros elementos posibles. La composición de la presente invención, que incluye las distintas modalidades descritas en la presente, puede comprender, consistir en o consistir esencialmente en los elementos esenciales y las limitaciones descritos en la presente, así como cualquier ingrediente, componente o limitación adicional u opcional descritos en la presente o de cualquier otra manera en la presente dependiendo de las necesidades. A menos que se indique de cualquier otra manera, la práctica de la presente invención empleará técnicas convencionales que están dentro de las capacidades de una persona con experiencia en la técnica. Tales técnicas se explican en la literatura. A menos que se defina de cualquier otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que comúnmente se entiende por un experto en la técnica.

Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango y, a menos que se indique de cualquier otra manera, todos los porcentajes descritos en la presente se expresan en peso. Como se usa en la presente, el término “aproximadamente” significa en la región de, más o menos, o alrededor de. Cuando el término “aproximadamente” se usa junto con un valor o

rango numérico, este modifica ese valor o rango al extender los límites por encima y por debajo del(de los) valor(es) numérico(s) expuesto(s). Generalmente, el término “aproximadamente” se usa en la presente para modificar uno o más valores numéricos por encima y por debajo del(de los) valor(es) indicado(s) en 10 %.

El término “sujeto”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un mamífero. Mamífero incluye, pero no se limita a, roedores, mamíferos acuáticos, animales domésticos tales como perros y gatos, animales de granja tales como ovejas, cerdos, vacas y caballos, y seres humanos. En una modalidad, el mamífero puede ser un gato, un perro o un ser humano. El humano puede ser un adulto, por ejemplo un hombre o una mujer, un adolescente, un infante, un niño pequeño o un niño pequeño. En una modalidad de la invención, el sujeto es un mamífero seleccionado del grupo que consiste en un gato, un perro y un ser humano.

El término “infante” se refiere a un niño menor de 12 meses de edad. El término infante incluye tanto infantes nacidos a término como al infante nacido prematuro. La expresión “niño pequeño” significa un niño de entre uno y tres años de edad, conocido, además, como “niño en la etapa de aprender a caminar”. La expresión “niño” significa un niño entre uno y diez años de edad, que incluyen niños pequeños y niños en edad preescolar. Preferentemente, el término “niño” significa un niño entre tres y cinco años de edad.

El término adolescente significa un individuo de entre 10 y 19 años de edad.

Los términos “apoyar”, “promover”, “potenciar” o “mejorar” pueden usarse indistintamente en el contexto de la presente invención. Deben entenderse como medidas que apoyan o ayudan a dormir, por ejemplo, mejorando la calidad del sueño, disminuyendo la dificultad para conciliar el sueño y reduciendo los trastornos del sueño. El sujeto puede no padecer alguna enfermedad pero puede ser susceptible al desarrollo de condiciones poco saludables, tales como fatiga aguda, depresión o irritabilidad que pueden interferir con la vida cotidiana.

Los términos “tratar” o “que trata” significan abordar una enfermedad o afección médica con el objetivo de mejorar o estabilizar un resultado en la persona que está siendo tratada o atender una necesidad nutricional subyacente. El tratamiento, por lo tanto, incluye el manejo dietético o nutricional de la condición médica o enfermedad abordando las necesidades nutricionales de la persona que está siendo tratada. El tratamiento incluye la eliminación, reducción o alivio de los síntomas asociados con la condición médica o enfermedad.

Los términos “prevenir” o “que previene” significan disminuir el riesgo de inicio o recurrencia de una enfermedad o afección médica. Por lo tanto, se contempla tanto la prevención primaria como la secundaria.

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “trastornos del sueño” se refiere a afecciones que afectan la calidad, el tiempo o la duración del sueño e impactan la capacidad de una persona para realizar actividades adecuadamente cuando está despierta. Los trastornos del sueño se caracterizan por problemas para conciliar o permanecer dormido, dificultad para mantenerse despierto durante el día, desequilibrios en el ritmo circadiano.

El término “insomnio” se refiere a la dificultad persistente para conciliar el sueño (iniciación del sueño), consolidación del sueño y permanecer dormido que interfieren con un horario de sueño saludable o comportamientos inusuales que interrumpen el sueño. Las personas que sufren de insomnio crónico muestran un mayor riesgo de desarrollar afecciones psiquiátricas, tales como depresión o ansiedad, y pueden tener una respuesta intensa a eventos estresantes. La administración de melatonina es eficiente para tratar el insomnio

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “mala calidad del sueño” se refiere a un sueño que no es reparador ni revitalizante.

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “latencia del sueño” se relaciona con la medición de cuánto tiempo tarda un individuo en conciliar el sueño. Usualmente, se acepta que quedarse dormido dentro de los 30 minutos o menos después de la hora en que el individuo se acuesta es el signo de una buena calidad del sueño.

En el contexto de la presente invención, la expresión “despertar del sueño” mide la frecuencia con la que un individuo se despierta durante la noche. La vigilia frecuente por la noche puede interrumpir el ciclo del sueño y reducir la calidad del sueño. Despertarse una vez o no en absoluto suele sugerir una buena calidad de sueño.

Dentro del contexto de la presente invención, el término “vigilia” mide cuántos minutos pasó despierto un individuo durante la noche después de acostarse. 20 minutos o menos de vigilia durante la noche suele ser un signo de buena calidad del sueño.

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “eficiencia del sueño” mide el tiempo que pasa realmente durmiendo mientras está en la cama. Una medición del 85 por ciento suele sugerir una buena calidad de sueño.

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “trastornos del ritmo circadiano” se refiere a un grupo de trastornos que se relacionan con alteraciones en el ciclo sueño-vigilia debido a problemas con el ritmo circadiano. El ritmo circadiano es un ciclo de aproximadamente 24 horas que está presente de forma natural en todos los organismos vivos y regula la ida y vuelta entre los estados de reposo y actividad. En los humanos, este ritmo está controlado por el reloj interno ubicado en el hipotálamo. La melatonina juega un papel en la regulación del ritmo circadiano, atenuando la señal promotora de vigilia del reloj circadiano promoviendo así el sueño (Liu C et al. Neuron 1997; 19: 91-102) y se usa como tratamiento de trastornos del ritmo circadiano y trastornos del sueño.

Dentro del contexto de la presente invención, el término “parasomnias” se refiere a eventos indeseables que ocurren durante el sueño NREM (movimiento ocular no rápido) o REM (movimiento ocular rápido) o transiciones hacia y desde el sueño. La melatonina tiene efectos beneficiosos en pacientes que padecen parasomnias (McGrane AR et al. Sleep Med. 2015; 16(1): 19-26).

El término “narcolepsia” se refiere a un trastorno del ritmo circadiano y deficiencia del sueño REM, que hace que el individuo se sienta excesivamente cansado durante el día a pesar de obtener una cantidad adecuada de sueño. La melatonina altera la arquitectura del sueño

en la narcolepsia (Xie Z et al. Neurological Research 2017; 39: 559-565) y puede ayudar a regular e inducir el sueño, aumentando el tiempo de sueño REM y mejorando la calidad del sueño, reduciendo de esta manera la narcolepsia.

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “trastornos del movimiento relacionados con el sueño” se refiere a trastornos del sueño en los que los movimientos repetitivos interfieren con el sueño. Los trastornos de los movimientos relacionados con el sueño incluyen: Síndrome de piernas inquietas (RLS, por sus siglas en inglés), una afección en la que el individuo experimenta impulsos fuertes, a veces irresistibles, de mover sus extremidades, trastornos periódicos del movimiento de las extremidades (PLMD, por sus siglas en inglés) que implica movimientos repetitivos de los brazos, piernas o pies durante el sueño, bruxismo relacionado con el sueño en el que un individuo aprieta o rechina los dientes durante el sueño, calambres en las piernas relacionados con el sueño en los que el individuo experimenta espasmos musculares repentinos e involuntarios y trastorno del movimiento rítmico relacionado con el sueño que es una condición caracterizada por movimientos repetitivos y rítmicos, usualmente balanceo corporal, golpes en la cabeza o rodamiento de la cabeza, que ocurren durante el sueño. La melatonina puede tener un efecto beneficioso para reducir los trastornos del movimiento relacionados con el sueño (Metin O et al. Sleep Sci. 2019; 12(1) 53-56).

Dentro del contexto de la presente invención, la expresión “trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD)” se refiere a respiración anormal y difícil durante el sueño, que incluye ronquidos crónicos y apnea del sueño. Se ha demostrado que la melatonina mejora las complicaciones causadas por los SBD (Xie Z. et al. Neurological Research 2017; 39: 559-565).

La expresión “composición nutricional” significa una composición que nutre al sujeto. Esta composición nutricional, usualmente, debe tomarse por vía oral o parenteral, y usualmente, incluye una fuente de lípidos o grasa y una fuente de proteína. También puede incluirse una fuente de carbohidratos. Además, la composición nutricional puede comprender los

siguientes micronutrientes: vitaminas, minerales, fibra, fitoquímicos, antioxidantes, prebióticos, probióticos, bioactivos, metabolitos (p. ej., butirato, ácido docosahexaenoico (DHA, por sus siglas en inglés), ácido eicosapentaenoico (EPA, por sus siglas en inglés), ácido gamma-linolénico (GLA, por sus siglas en inglés)) y cualquier combinación de estos. La composición también puede contener aditivos alimentarios tales como estabilizantes (cuando se proporcionan en forma líquida o sólida) o emulsionantes (cuando se proporcionan en forma líquida). La composición nutricional puede estar en forma sólida (p. ej., polvo), semisólida o líquida; puede proporcionarse, por ejemplo, en forma de una píldora, una tableta, una pastilla, una cápsula o tableta masticable, una tableta o cápsula, o un suplemento en polvo que puede, por ejemplo, disolverse en agua o rociarse sobre los alimentos. En una modalidad, la composición nutricional de la invención es una composición nutricional sintética.

En una modalidad particular, la combinación o composición de la presente invención es una “combinación sintética” o “composición nutricional sintética”. La expresión “combinación sintética” o “composición nutricional sintética” significa una mezcla obtenida por medios químicos y/o biológicos, que puede ser químicamente idéntica a la mezcla de origen natural en las leches de mamíferos (es decir, la combinación sintética o composición sintética no es leche materna).

La combinación o composición nutricional de la presente invención puede ser un producto alimenticio, un producto alimenticio funcional, un producto alimenticio de maduración saludable, un producto lácteo, un producto alternativo lácteo, una leche o producto a base de leche, una bebida, un producto dietético, un producto alimenticio para mascotas, una fórmula infantil, una fórmula de desarrollo o una fórmula de seguimiento, un alimento para bebés, una composición de cereales infantiles, leche de crecimiento (o GUM) o un fortificante. En una modalidad, la combinación o composición nutricional de la presente invención es una fórmula infantil, una fórmula de desarrollo o una fórmula de seguimiento,

un alimento para bebés, una composición de cereales infantiles, leche de crecimiento (o GUM) o un fortificante.

El término “producto alimenticio”, como se usa en la presente descripción, se refiere a cualquier tipo de producto que un ser humano o un animal puede consumir de manera segura. Un producto alimenticio puede estar en forma sólida, semisólida o líquida y puede comprender uno o más nutrientes, alimentos o suplementos nutricionales. Por ejemplo, el producto alimenticio puede comprender adicionalmente los siguientes nutrientes y micronutrientes: una fuente de proteínas, una fuente de lípidos, una fuente de carbohidratos, vitaminas y minerales. El producto alimenticio puede contener, además, antioxidantes, estabilizantes (cuando se proporciona en forma sólida) o emulsionantes (cuando se proporciona en forma líquida).

El término “producto alimenticio funcional”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto alimenticio que proporciona una función adicional de promoción de la salud o prevención de enfermedades al individuo.

El término “producto para el envejecimiento saludable”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto que proporciona una función adicional de promoción de la salud o de prevención de enfermedades relacionada con el envejecimiento saludable del individuo.

El término “productos lácteos”, como se usa en la presente descripción, se refiere a los productos alimenticios producidos a partir de leche o fracciones de leche de animales tales como vacas, cabras, ovejas, yaks, caballos, camellos y otros mamíferos. Los ejemplos de productos lácteos son leche baja en grasa (p. ej., 0,1 %, 0,5 % o 1,5 % de grasa), leche descremada, leche en polvo, leche entera, productos de leche entera, mantequilla, suero de leche, productos de suero de leche, leche descremada, productos de leche desnatada, productos de leche alta en grasa, leche condensada, crema fresca, queso, helado y otros productos de confitería, bebidas probióticas o bebidas tipo yogur probiótico.

El término “producto lácteo alternativo”, como se usa en la presente descripción, se refiere a productos similares a los productos lácteos pero elaborados sin leche.

El Codex Alimentarius define el término “leche”, como se usa en la presente descripción, como la secreción mamaria normal de animales de ordeño obtenida de uno o más ordeños, sin ya sea la adición de esta o extracción de esta, destinada al consumo como leche líquida o para procesamiento adicional.

El término “producto de bebida”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto nutricional en forma líquida o semilíquida que un individuo puede consumir con seguridad.

El término “producto dietético”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto alimenticio con un contenido calórico restringido y/o reducido.

El término “producto alimenticio para mascotas”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un producto alimenticio que se destina al consumo por parte de mascotas.

Una mascota, o animal de compañía, como se menciona en la presente descripción, debe entenderse como un animal seleccionado de perros, gatos, aves, peces, roedores tales como ratones, ratas.

La expresión “fórmula infantil”, como se usa en la presente descripción, se refiere a un alimento destinado a un uso nutricional particular de los infantes durante los primeros meses de vida y que satisface por sí mismo los requisitos nutricionales de esta categoría de persona (Artículo 2(c) de la Directiva de la Comisión Europea 91/321/EEC 2006/141/EC del 22 de diciembre de 2006 sobre fórmulas infantiles y fórmulas de seguimiento). También se refiere a una composición nutricional destinada para infantes y como se define en el Codex Alimentarius (Codex STAN 72-1981) y Especialidades de infantes (incl. Alimento para propósitos médicos especiales). La expresión “fórmula infantil” abarca tanto “fórmula infantil de inicio” como “fórmula de continuación” o “fórmula de seguimiento”.

Una “fórmula de seguimiento” o “fórmula de mantenimiento” se suministra desde el sexto mes en adelante. Esta constituye el elemento líquido principal en la dieta progresivamente diversificada de esta categoría de persona.

La expresión “alimento para bebé” significa un alimento destinado para usos nutricionales particulares por los infantes o niños pequeños durante los primeros años de vida.

La expresión “composición de cereal infantil” significa un alimento destinado para usos nutricionales particulares por los infantes o niños pequeños durante los primeros años de vida.

La expresión “leche de crecimiento” (o GUM, por sus siglas en inglés) se refiere a una bebida basada en leche generalmente con vitaminas y minerales añadidos, de uso previsto en niños o niños pequeños.

El término “fortificador” se refiere a composiciones nutricionales líquidas o sólidas adecuadas para fortificar o mezclarse con leche humana, fórmula infantil, leche de crecimiento o leche materna humana fortificadas con otros nutrientes. En consecuencia, el fortificante puede administrarse después de la disolución en leche materna humana, en fórmula infantil, en leche de crecimiento o en leche materna humana fortificada con otros nutrientes o, de cualquier otra manera, puede administrarse como una composición independiente. Cuando se administra como una composición independiente, el fortificador de leche también puede identificarse como un “suplemento”.

Un “oligosacárido” es un polímero de sacárido que contiene una pequeña cantidad (típicamente de tres a diez) de azúcares simples (monosacáridos).

El término “galactooligosacáridos” se refiere a un tipo de fibra no digerible con actividad prebiótica. Los GOS se forman a través de la conversión enzimática de lactosa. Los GOS generalmente comprenden una cadena de unidades de galactosa que surgen a través de reacciones consecutivas de transgalactosilación, con una unidad de glucosa terminal, aunque en su lugar puede estar presente una unidad de galactosa terminal. El grado de polimerización de GOS típicamente varía de 2 a 8 unidades monoméricas.

El término “HMO” se refiere a oligosacárido(s) de la leche humana. Estos carbohidratos son altamente resistentes a la hidrólisis enzimática, lo que indica que pueden exhibir funciones esenciales no relacionadas directamente a su valor calórico. Se ha ilustrado especialmente que desempeñan una función vital en el desarrollo temprano de infantes y niños pequeños,

tal como la maduración del sistema inmunitario. Muchos tipos diferentes de HMO se encuentran en la leche humana. Cada oligosacárido individual se basa en una combinación de glucosa, galactosa, ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico), fucosa y/o N-acetilglucosamina con muchos y variados enlaces entre ellos, lo que genera el enorme número de diferentes oligosacáridos en la leche humana: más de 130 de tales estructuras se han identificado hasta el momento. Casi todas estas tienen una entidad de lactosa en su extremo reductor, mientras el ácido siálico y/o la fucosa (cuando está presente) ocupan posiciones terminales en los extremos no reductores. Los HMO pueden ser acídicos (p. ej., oligosacárido cargado que contiene ácido siálico) o neutral (p. ej., oligosacárido fucosilado). Un “oligosacárido fucosilado” es un oligosacárido que tiene un residuo de fucosa. Tiene una naturaleza neutra. Algunos ejemplos son 2’FL (2’-fucosilactosa), 3-FL (3-fucosilactosa), difucosilactosa (DFL), Lacto-difucotetraosa (LDFT)), lacto-N- fucopentaosa (p. ej. lacto-N-fucopentaosa I, lacto-N-fucopentaosa II, lacto-N-fucopentaosa III, lacto-N-fucopentaosa V), lacto-N-fucohexaosa, lacto-N-difucohexaosa I, fucosil-lacto-N-hexaosa, fucosil-lacto-N-neohexaosa, difucosil-lacto-N-hexaosa I, difucosil-lacto-N-neohexaosa II y cualquier combinación de estas.

La expresión “oligosacárido(s) N-acetilado(s)” abarca la “N-acetil-lactosamina” y “oligosacárido(s) que contienen N-acetil-lactosamina”. Estos son oligosacáridos neutros que tienen un residuo de N-acetil-lactosamina. Los ejemplos adecuados son LNT (lacto-N-tetraosa), para-lacto-N-neohexaosa (para-LNnH), LNnT (lacto-N-neotetraosa) y cualquier combinación de estas. Otros ejemplos son lacto-N-hexaosa, lacto-N-neohexaosa, para-lacto-N-hexaosa, para-lacto-N-neohexaosa, lacto-N-octaosa, lacto-N-neooctaosa, iso-lacto-N-octaosa, para-lacto-N-octaosa y lacto-N-decaosa.

Un “precursor de HMO” es un compuesto fundamental que interviene en la fabricación de HMO, tal como ácido siálico y/o fucosa.

Un “oligosacárido sialilado” es un oligosacárido cargado que contiene ácido siálico, es decir, un oligosacárido que tiene un residuo de ácido siálico. Tiene una naturaleza acídica. Algunos ejemplos son 3-SL (3' sialilactosa) y 6'SL (6' sialilactosa).

La combinación o composición nutricional de la presente invención puede estar en forma sólida (p. ej., polvo) o en forma líquida. La cantidad de los diversos ingredientes (p. ej., los oligosacáridos) puede expresarse en g/100 g de la composición sobre una base de peso seco cuando está en una forma sólida, p. ej., un polvo, o como una concentración en g/l de la composición cuando se refiere a una forma líquida (esta última abarca, además, una composición líquida que puede obtenerse a partir de un polvo después de la reconstitución en un líquido, tal como leche, agua..., p. ej., una fórmula infantil reconstituida o una fórmula de mantenimiento/seguimiento o una leche de crecimiento o un producto para cereales infantiles o cualquier otra formulación que se diseñe para la nutrición infantil).

El término “prebiótico” significa carbohidratos no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped al estimular selectivamente el crecimiento y/o la actividad de bacterias saludables tales como las bifidobacterias en el colon de los humanos (Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995;125:1401-12).

Uso

En un aspecto, la presente invención proporciona una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en la promoción del sueño y/o en el tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla de HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

La combinación puede estar en forma de una composición nutricional.

Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición nutricional que comprende una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de

oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en la promoción del sueño y/o en el tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

Existe evidencia preclínica y clínica del efecto beneficioso de la melatonina exógena en la promoción del sueño (Dawson D et al. J Pineal Res. 1993; 15(1): 1-12) y mejoramiento de la latencia, duración y calidad del inicio del sueño en niños (Chang YS et al. JAMA Pediatr. 2016; 170:35-42), en adolescentes (Barlett DJ et al. Med J Austr. 2013 ; 199 : S16-S20), adultos mayores (Lahteenmaki R et al. Br J Clin Pharmacol 2014; 77: 975-985) y mujeres posmenopáusicas (Amstrup AK et al. Nutr J. 2015; 14: 102). Otra evidencia muestra el efecto de la melatonina en el tratamiento de trastornos relacionados con el sueño (Xie Z et al. Neurological research 2017; 39: 559-565). No obstante, no se ha demostrado anteriormente que alguna solución nutricional aumente de manera natural la síntesis de melatonina por la microbiota intestinal de un sujeto expuesto a la solución nutricional.

Adecuadamente, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la presente invención promueve el sueño y/o trata y/o previene trastornos del sueño en un sujeto aumentando la producción de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto. alguna evidencia sugiere una relación entre los ritmos circadianos y el microbioma intestinal (Matenchuk BA et al. Sleep Med Rev 2020; 53: 101340). Se demostró que la absorción de melatonina ocurre en todo el tracto gastrointestinal (GI) (Tran HT et al. Int J. Pharm. 2009; 378(1-2): 9-16).

Los inventores han encontrado que una combinación de GOS y 2'-FL y DFL o LNT y 6'-SL dieron como resultado un aumento de la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal. La ventaja de la presente invención es que la melatonina no se proporciona exógenamente, por ejemplo en forma de suplementación oral, evitando problemas relacionados con la

definición de dosificación correcta o modulación de la absorción, por ejemplo debido a excipientes.

En algunas modalidades, la combinación de acuerdo con la invención o la composición nutricional de acuerdo con la invención no contienen melatonina.

Los inventores también han encontrado que una mezcla de 2'FL y DFL indujo biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal. Por consiguiente, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición nutricional para usar en la promoción del sueño y/o en el tratamiento y/o prevención de trastornos del sueño en un sujeto, en donde la composición nutricional comprende una mezcla de los HMO que consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL).

En algunas modalidades, promover el sueño mejora la latencia, la duración y la calidad del inicio del sueño.

En algunas modalidades, tratar o prevenir los trastornos del sueño mejora la calidad del sueño y regula el ritmo circadiano en un sujeto. De esta manera, se reducen los trastornos relacionados con el sueño. En otra modalidad, tratar o prevenir los trastornos del sueño reduce el insomnio, la mala calidad del sueño, el despertar del sueño, la vigilia, los trastornos del ritmo circadiano, las parasomnias, la narcolepsia, los trastornos del movimiento relacionados con el sueño y los trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD).

En un aspecto, la presente invención proporciona una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el incremento de la producción de melatonina por la microbiota intestinal en un sujeto, en donde la mezcla de las HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición nutricional que comprende una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el incremento de la producción de

melatonina por la microbiota intestinal en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En aún otro aspecto, la presente invención proporciona una composición nutricional que comprende una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el incremento de la producción de melatonina por la microbiota intestinal en un sujeto, en donde la mezcla de los HOM consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL). De manera adecuada, la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto aumento de 1 a 10 veces, tal como de 1,1 a 2 veces, preferentemente de 1,1 veces a 1,5 veces. De manera adecuada, la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto se incrementa al menos 1 vez, tal como en 1,1 veces, 1,3 veces, 1,4 veces, 1,5 veces o 2 veces.

De manera adecuada, el logaritmo base-2 de la relación entre el valor de melatonina para la combinación o composición de acuerdo con la invención y el valor de melatonina para un control de leche correspondiente se incrementa en 0,1 a 1, adecuadamente de 0,1 a 0,5.

La cantidad de melatonina secretada (es decir, biosíntesis de melatonina) por la microbiota intestinal del sujeto puede medirse por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede usarse el método descrito en la presente (ver el Ejemplo). De manera adecuada, la cantidad de melatonina en muestras fecales frescas expuestas a la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención puede compararse con muestras no expuestas a una combinación o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

El eje intestino-cerebro consiste en la comunicación bidireccional entre el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso entérico (SNE) con las funciones intestinales periféricas. El sistema nervioso autónomo, el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) y los nervios dentro del tracto gastrointestinal (GI) todos vinculan el intestino al cerebro, permitiendo que el cerebro influya en las actividades intestinales. El eje intestino-cerebro

puede influir en el estado de ánimo, la función cognitiva, la respuesta al estrés, la memoria, el envejecimiento cerebral, el sistema intestinal y el sueño. Los avances recientes en la investigación han descrito la importancia de la microbiota intestinal para influir en estas interacciones. Esta interacción entre la microbiota y el eje cerebro-intestino parece ser bidireccional, es decir, implica la señalización de la microbiota intestinal al cerebro y del cerebro a la microbiota intestinal por medio de enlaces neurales, endocrinos, inmunes y humorales (p. ej., por medio del nervio vago). En la práctica clínica, la evidencia de interacciones microbiota-GBA proviene de la asociación de disbiosis con trastornos nerviosos centrales (es decir, autismo, conductas ansiedad-depresivas) y trastornos gastrointestinales funcionales (Wiley NC et al. *Mod Trends Psychiatry* 2021; 32: 74-99).

Además de la regulación directa del sueño por parte del cerebro, se ha demostrado que las señales de los órganos periféricos también juegan un papel en la regulación del sueño. Por ejemplo, el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) es una vía endocrina que juega un papel crítico en la regulación del sueño (Buckley TM et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3106-3114). Recientemente, se ha reportado una relación entre trastornos del sueño y cambios en la microbiota intestinal. La microbiota intestinal puede usar el eje cerebro-intestino como un puente para establecer una conexión con el sueño, que incluye principalmente vías inmunitarias, vías neurales y vías endocrinas.

Por consiguiente, en algunas modalidades, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención participa en la comunicación entre el intestino y el cerebro promoviendo la secreción de moléculas neuroactivas.

En otro aspecto, la invención proporciona una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el mantenimiento o promoción de la comunicación entre el intestino y el cerebro promoviendo la secreción de moléculas neuroactivas en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o en lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En otro aspecto, la invención proporciona una composición nutricional que comprende una combinación de galactooligosacáridos (GOS) y una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el mantenimiento o promoción de la comunicación entre el intestino y el cerebro promoviendo la secreción de moléculas neuroactivas en un sujeto, en donde la mezcla de los HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL) o en lacto-N-tetraosa (LNT) y 6' sialilactosa (6'SL).

En otro aspecto, la invención proporciona una composición nutricional que comprende una mezcla de oligosacáridos de leche humana (HMO) para usar en el mantenimiento o promoción de la comunicación entre el intestino y el cerebro promoviendo la secreción de moléculas neuroactivas en un sujeto, en donde la mezcla de HMO consiste en 2'-fucosilactosa (2'FL) y difucosilactosa (DFL).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para promover el sueño y/o para tratar y/o prevenir trastornos del sueño en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mantener o restaurar la funcionalidad de las vías de transmisión bidireccionales en el eje intestino-cerebro a niveles saludables en un sujeto, el método comprende administrar al sujeto una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para aumentar la producción de melatonina por el intestino de un sujeto, el método comprende administrar a un sujeto una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención.

En algunas modalidades del método y usos de la invención, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención se administra a un sujeto en una cantidad efectiva. La expresión una "cantidad efectiva" significa una cantidad que previene una deficiencia, trata una

enfermedad o afección médica en un individuo o, más generalmente, reduce síntomas, maneja la progresión de las enfermedades o proporciona un beneficio nutricional, fisiológico o médico al individuo.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención para promover el sueño y/o tratar y/o prevenir trastornos en un sujeto. Adecuadamente, la combinación promueve el sueño y/o trata y/o previene trastornos del sueño en un sujeto al aumentar la producción de melatonina por la microbiota intestinal del sujeto.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención para mantener o restaurar la funcionalidad de las vías de transmisión bidireccionales en el eje intestino-cerebro a niveles saludables en un sujeto.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de una combinación de acuerdo con la invención o una composición nutricional de acuerdo con la invención para aumentar la producción de melatonina por la microbiota intestinal de un sujeto.

En algunas modalidades, el uso o método de acuerdo con la invención es no terapéutico. Adecuadamente, el uso o método es para aumentar la producción de melatonina por la microbiota intestinal de un sujeto; para promover el inicio, latencia del sueño en un sujeto; por promover la duración del sueño en un sujeto; o por promover la calidad del sueño en un sujeto.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición de acuerdo con la invención se usa para el tratamiento de trastornos del sueño en un sujeto.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición de acuerdo con la invención se usa para la prevención de los trastornos del sueño en un sujeto.

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, los trastornos del sueño tratados y/o prevenidos consisten de insomnio, mala calidad del sueño, despertar temprano, trastornos del ritmo circadiano, parasomnias, trastornos del movimiento relacionados con el sueño y trastornos respiratorios relacionados con el sueño (SBD).

Población objetivo

En algunas modalidades de los métodos y usos de la invención, la combinación o composición se administra a un sujeto adulto, por ejemplo un hombre o una mujer, un adolescente, un infante, un niño pequeño y/o un niño.

En una modalidad de la presente invención, la combinación o la composición se administra a un infante, niño pequeño o un niño.

En una modalidad de la presente invención, la combinación o composición se administra a un infante.

En algunas modalidades de la presente invención, la combinación o composición se administra a un niño pequeño.

En una modalidad de la presente invención, la combinación o composición se administra a un niño.

En una modalidad de la presente invención, el infante o niños pequeños tienen una edad que varía de 0 meses a 36 meses.

En otra modalidad, el infante o niños pequeños tienen una edad que varía de 0 meses a 24 meses, por ejemplo 18 meses.

En una modalidad adicional, el infante tiene una edad que varía de 0 meses a 12 meses, por ejemplo 9 o 6 meses.

En algunas modalidades, el niño pequeño tiene una edad que varía de un año a tres años, por ejemplo 2 años.

En algunas modalidades, el niño tiene una edad que varía de tres años a siete años. En algunas modalidades preferidas, el niño tiene una edad que varía de tres años a cinco años, por ejemplo cuatro años.

La composición nutricional de acuerdo con la invención es usarse en sujetos adultos, por ejemplo un hombre o una mujer, adolescentes, infantes, niños pequeños y/o niños. En una modalidad, la invención es para usar en infantes, niños pequeños y/o niños.

La composición nutricional puede administrarse (o darse o alimentarse) a una edad y durante un período que depende de las necesidades. La composición nutricional puede, por ejemplo, administrarse inmediatamente después del nacimiento de los infantes. La composición de la invención puede, además, suministrarse durante la primera semana de vida del infante, o durante las primeras 2 semanas de vida, o durante las primeras 3 semanas de vida, o durante el primer mes de vida, o durante los primeros 2 meses de vida, o durante los primeros 3 meses de vida, o durante los primeros 4 meses de vida, o durante los primeros 6 meses de vida, o durante los primeros 8 meses de vida, o durante los primeros 10 meses de vida, o durante el primer año de vida, o durante los primeros dos años de vida o aún más. En algunas modalidades particularmente ventajosas de la invención, la composición nutricional se suministra (o se administra) a un infante dentro de los primeros 4, 6 o 12 meses de vida de dicho infante. En algunas otras modalidades, la composición nutricional de la invención se administra pocos días (p. ej., 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20...), o pocas semanas (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10...), o pocos meses (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10...) después del nacimiento. Este puede ser especialmente el caso cuando el infante es prematuro, pero no necesariamente.

En una modalidad, la composición de la invención se suministra al infante o niño pequeño como una composición suplementaria a la leche materna. En algunas modalidades, el infante o niño pequeño recibe la leche materna durante al menos las primeras 2 semanas, los primeros 1, 2, 4, o 6 meses. En una modalidad, la composición nutricional de la invención se da al infante o el niño pequeño después de tal período de nutrición de la

madre, o se suministra junto con tal período de nutrición de la leche materna. En otra modalidad, la composición se administra al infante o niño pequeño como única o principal composición nutricional durante al menos un período de tiempo, por ejemplo, después del 1.°, 2.° o 4.° mes de vida, durante al menos 1, 2, 4 o 6 meses.

Combinaciones

En una modalidad, la mezcla de oligosacáridos consiste en 2'FL y DFL.

En una modalidad de la invención, la 2'FL está presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,005-8 g/l de la combinación o composición. En algunas modalidades, la 2'FL puede estar en una cantidad de 0,01-3 g/l, tal como 0,04-2 g/l o 0,05-1,5 g/l o 0,09-1,2 g/l. En una modalidad particular, la 2'FL está en una cantidad de 1 g/l. En otra modalidad particular, la 2'FL está en una cantidad de 0,2 g/l.

La 2'FL puede estar presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,004-6,8 g/100 g de combinación o composición en una base de peso seco, la 2'FL puede estar presente en una cantidad de 0,008-2,4 g/100 g, tal como 0,03-1,6 g/100 g o 0,04-1,2 g/100 g o 0,07-1,0 g/100 g. En una modalidad particular, la 2'FL está presente en una cantidad de 0,8 g/100 g. En otra modalidad particular, la 2'FL está presente en una cantidad de 0,16 g/100 g.

En otra modalidad particular, la 2'FL está en una cantidad de 5-500 g/l, 10 a 400 g/l, 40 a 300 g/l, 60-200 g/l, 80-180 g/l, 100-150 g/l o 110-130 g/l. En una modalidad particular, la 2'-FL está en una cantidad de 120 g/l. Tales cantidades son particularmente adecuadas cuando la composición nutricional está en la forma de un suplemento o de un fortificador.

Cuando el suplemento o fortificador está en forma de polvo de 2'FL se proporciona, preferentemente, en la composición nutricional de la presente invención en tal cantidad de 0,05-5 g, 0,1-4,5 g, 0,15-4 g, 0,2 a 3,5 g, 0,25 a 3, 0,3 a 2,5, 0,35 a 2, 0,4 a 1,5 g, 0,45-1 g, 0,5 a 0,75 g, por ejemplo, 0,6 g por porción.

En algunas modalidades, la DFL está en una cantidad de 0,0005-0,5 g/l de la combinación o composición, tal como 0,001-0,3 g/l o 0,002-0,2 g/l o 0,01-0,25 g/l o 0,015-0,2 g/l o 0,025-0,19 g/l o 0,075-0,165 g/l de la combinación o composición. En una modalidad particular, la DFL está en una cantidad de 0,1 g/l. En otra modalidad particular, la DFL está en una cantidad de 0,025 o 0,026 g/l. En una modalidad, la DFL está en una cantidad mayor que 0,01 g/l y, opcionalmente, menor que 0,1 g/l o mayor que 0,02 y menor que 0,08 g/l. En una modalidad, la DFL está presente en una cantidad de al menos 0,01 g/l, al menos 0,025, al menos 0,026, al menos 0,05, al menos 0,07, al menos 0,08, al menos 0,1, al menos 0,125, al menos 0,15 al menos 0,15 o al menos 0,2 g/l.

En algunas modalidades, la DFL está presente en la combinación o composición en una cantidad total de 0,0004-0,38 g/100 g de combinación o composición en una base de peso seco. La DFL puede estar en una cantidad de 0,0008-0,23 g/100 g, tal como 0,0015-0,15 g/100 g, o 0,008-0,19 g/100 g o 0,012-0,15 g/100 g o 0,015-0,15 g/100 g o 0,019-0,15 g/100 g. En una modalidad particular, la DFL está en una cantidad de 0,0075 o 0,078 g/100 g. En otra modalidad particular, la DFL está en una cantidad de 0,02 g/100 g. En una modalidad particular, la DFL está en una cantidad de al menos 0,001 g/100 g, al menos 0,002 g/100 g, al menos 0,005 g/100 g, al menos 0,01 g/100 g, al menos 0,02 g/100 g, al menos 0,025 g/100 g, al menos 0,04 g/100 g, al menos 0,05 g/100 g, al menos 0,075 g/100 g, al menos 0,09 g/100 g, al menos 0,1 g/100 g, al menos 0,15 g/100 g, al menos 0,2 g/100 g o al menos 0,3 g/100 g.

En una modalidad particular, la DFL se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que el consumo normal de la combinación o composición nutricional proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis diaria total de 0,003-3,9 g, preferentemente 0,006-3 g o 0,05-3 g o 0,1-3 g, por ejemplo, 1,1-2,8 g por día.

En una modalidad particular, la DFL se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que una porción de la combinación o

composición nutricional proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis total de 0,003-3,9 g, preferentemente 0,006-3 g o 0,05-2,5 g o 0,1-2 g, por ejemplo, 0,02 a 0,07 g por porción.

En un aspecto particular de la invención, la combinación o composición nutricional es una fórmula infantil que comprende una mezcla de HMO que consiste en 2'-FL y DFL en donde:

- 2'-FL está en una cantidad de 1-2 g/l, preferentemente 1,3 g/l, de la composición y/o en una cantidad de 0,8-1,5 g/100 g, preferentemente 1 g/100 g de composición según el peso seco; y/o
- DFL en una cantidad de 0,1 o 0,3 g/l, preferentemente 0,2 g/l, de la composición y/o en una cantidad de 0,08-0,2 g/100 g, preferentemente 0,2 g/100 g de composición en una base de peso seco.

En otro aspecto particular de la invención, la combinación o composición nutricional es un suplemento o un fortificante y comprende una mezcla de HMO que consiste en 2'-FL y DFL en donde:

- 2'-FL está en una cantidad de 100-110 g/l, preferentemente 105 g/l, de la composición; y/o
- DFL está en una cantidad de 10-20 g/l, preferentemente 15 g/l, de la composición.

En un aspecto particular, 2'-FL y DFL están presentes en la mezcla de HMO en una relación de 2'-FL:DFL de 5:1 a 14:1, tal como 5:1 a 12:1, 5:1 a 10:1, 6:1 a 10:1 o 8:1 a 10:1. En modalidades particularmente ventajosas, esta relación es 9:1 o aproximadamente 9:1.

2'-FL y DFL pueden aislarse mediante cromatografía o tecnología de filtración a partir de una fuente natural, tal como las leches de animales. Alternativamente, la HMO puede producirse por medios biotecnológicos usando fucosiltransferasas y/o fucosidasas específicas ya sea usando la tecnología de fermentación a base de enzimas (enzimas recombinantes o naturales) o la tecnología de fermentación microbiana. En el último caso, los microbios pueden ya sea expresar sus enzimas y sustratos naturales o pueden modificarse para

producir respectivamente sustratos y enzimas. Pueden usarse cultivos microbianos simples y/o mezclados. La formación de 2'-FL y DFL puede iniciarse por sustratos aceptores que comienzan a partir de cualquier grado de polimerización (DP, por sus siglas en inglés), desde DP = 1 en adelante. Alternativamente, 2'-FL y DFL pueden producirse mediante síntesis química a partir de lactosa y fucosa libre. 2'-FL y DFL también están disponibles comercialmente, por ejemplo, por Glycom A/S en Dinamarca o Jennewein GmbH en Alemania. La 2'FL puede sintetizarse como se describe, por ejemplo, en "Large-scale synthesis of H-antigen oligosaccharides by expressing *Helicobacter pylori* alpha1,2-fucosyltransferase in metabolically engineered *Escherichia coli* cells" (Drouillard S, Driguez H, Samain E. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2006 Mar 3;45(11):1778-80) o puede obtenerse de fuentes comerciales.

En una modalidad de la presente invención, la combinación o composición nutricional comprende una mezcla de HMO que consiste en 2'FL y DFL. Debe entenderse que cuando la expresión "una mezcla de los HMO que consiste en 2'FL y DFL" se usa en el contexto de la presente invención, tal expresión excluye la presencia de los HMO diferentes de 2'FL y DFL en la mezcla. En particular, la mezcla está desprovista de oligosacáridos N-acetilados, oligosacáridos sialilados, oligosacáridos fucosilados distintos de 2'-FL y DFL y precursores de los HMO tales como ácido siálico o fucosa. En algunas modalidades, la combinación o composición nutricional está desprovista de oligosacáridos N-acetilados, oligosacáridos sialilados, oligosacáridos fucosilados distintos de 2'-FL y DFL y precursores de HMO tales como ácido siálico o fucosa.

En una modalidad, la mezcla de oligosacáridos consiste en LNT y 6'SL.

En una modalidad de la invención, la LNT está presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,005-3 g/l de la composición. En algunas modalidades, LNT puede estar en una cantidad de 0,01-1,5 g/l de la composición, tal como 0,04-1,2 g/l o 0,05-1 g/l o 0,09-0,8 g/l de la composición. En una modalidad particular, LNT está en una

cantidad de 0,5 g/l de la composición. En otra modalidad particular, LNT está en una cantidad de 0,1 g/l de la composición.

La LNT puede estar presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,004-2,3 g/100 g de composición en una base de peso seco, la LNT puede estar presente en una cantidad de 0,008-1,2 g/100 g de composición, tal como 0,03-0,9 g/100 g o 0,04-0,8 g/100 g o 0,07-0,6 g/100 g de la composición. En una modalidad particular, LNT está presente en una cantidad de 0,38 g/100 g de la composición. En otra modalidad particular, LNT está presente en una cantidad de 0,08 g/100 g de la composición.

En otra modalidad de la invención, la combinación o composición nutricional puede comprender de 0,005-5 g/l de 6'SL, o de 0,008-2,5 g/l, o de 0,01-1 g/l, o de 0,03-0,7 g/l, por ejemplo, 0,04 o 0,5 g/l de LNT.

La composición nutricional de acuerdo con la invención puede contener 0,004-3,8 g de LNT por 100 g de composición en una base de peso seco, p. ej., 0,006-1,9 g o 0,008-0,8 g o 0,023-0,5 g o 0,031-0,4 de LNT por 100 g de composición en una base de peso seco, por ejemplo, 0,18 g o 0,04 g por 100 g de composición en una base de peso seco.

En una modalidad particular, la LNT se proporciona en la composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que el consumo normal de la composición nutricional proporcionaría al infante o niño pequeño, respectivamente al niño, que la consume una dosis diaria total de 0,003-3,9 g, preferentemente, 0,006-2 g o 0,02-1,6 g o 0,03-1,3 g, por ejemplo, 0,05-1 g por día.

LNT puede sintetizarse químicamente por transferencia enzimática de unidades sacarídicas de las entidades donantes a las entidadesceptoras usando glicosiltransferasas como se describe, por ejemplo, en la patente de los EE. UU. núm. 5.288.637 y WO 96/10086.

La formación de 6'SL puede iniciarse por sustratos aceptores que comienzan a partir de cualquier grado de polimerización (DP), desde DP = 1 en adelante. Alternativamente, la 6'SL puede producirse por síntesis química a partir de lactosa y ácido N'-acetilneuramínico libre (ácido siálico).

En una modalidad de la invención, la 6'SL está presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,005-5 g/l de la composición. En algunas modalidades, la 6'SL puede estar en una cantidad de 0,08-2,5 g/l de la composición, tal como 0,01-1 g/l o 0,03-0,07 g/l o 0,04-0,5 g/l de la composición. En una modalidad particular, la 6'SL está en una cantidad de 0,24 g/l de la composición. En otra modalidad particular, la 6'SL está en una cantidad de 0,05 g/l de la composición.

La 6'SL puede estar presente en la combinación o composición nutricional en una cantidad de 0,004-3,8 g/100 g de composición en una base de peso seco, la 6'SL puede estar presente en una cantidad de 0,006-1,9 g/100 g de composición, tal como 0,008-0,8 g/100 g o 0,23-0,5 g/100 g o 0,031-0,4 g/100 g de la composición. En una modalidad particular, la 6'SL está presente en una cantidad de 0,18 g/100 g de la composición. En otra modalidad particular, la 6'SL está presente en una cantidad de 0,04 g/100 g de la composición.

En un aspecto particular, la 6'SL y la LNT comprendidas en la composición o composición nutricional de acuerdo con la invención están presentes, típicamente, en una relación 6'SL:LNT de 3:1 a 1:3, tal como 2:1 a 1:2 o 2:1 a 1:1. En una modalidad particularmente ventajosa, esta relación es 2:1 o aproximadamente 2,1, preferentemente, esta relación es 1:1 o aproximadamente 1:1.

En un aspecto particular de la invención, la combinación o composición nutricional comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,005-5 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,004-3,8 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o
- LNT está en una cantidad de 0,005-3 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,004-2,3 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En un aspecto particular de la invención, la combinación o composición nutricional comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,008-2,5 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,006-1,9 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o

- LNT está en una cantidad de 0,01-1,5 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,008- 1,2 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En otra modalidad particular, la combinación o composición nutricional de la presente invención comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,01-1 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,008- 0,8 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o
- LNT está en una cantidad de 0,04-1,2 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,03-0,9 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En otra modalidad particular, la combinación o composición nutricional de la presente invención comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,03-0,7 g/l de la composición y/o en una cantidad total de 0,023-0,5 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o
- LNT está en una cantidad de 0,05-1 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,04- 0,8 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En otra modalidad particular, la combinación o composición nutricional de la presente invención comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,04-0,5 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,031-0,4 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o
- LNT está en una cantidad de 0,09-0,8 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,07-0,6 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En una modalidad específica, la combinación o composición nutricional de la presente invención comprende 6'SL y LNT en donde:

- 6'SL está en una cantidad de 0,24 o 0,05 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,18 o 0,04 g/100 g de la composición en una base de peso seco; y/o
- LNT está en una cantidad de 0,5 g/l o 0,1 g/l de la composición y/o en una cantidad de 0,38 g/100 g de la composición o 0,08 g/100 g de la composición en una base de peso seco.

En una modalidad particular, la 6'SL se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que el consumo normal de la composición nutricional o la leche de crecimiento proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis diaria total de 0,003 a 6,5 g, preferentemente 0,005-3,3 g o 0,006-1,3 g o 0,02-0,9 g, por ejemplo, 0,024-0,7 g por día.

En una modalidad particular, LNT se proporciona en la composición nutricional o la leche de crecimiento de la presente invención en tal cantidad que el consumo normal de la composición nutricional o la leche de crecimiento proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis diaria total de 0,003-3,9 g, preferentemente, 0,006-2 g o 0,02-1,6 g o 0,03-1,3 g, por ejemplo, 0,05-1 g por día.

En una modalidad de la presente invención, la combinación o composición nutricional comprende una mezcla de los HMO que consiste en LNT y 6'SL. Debe entenderse que cuando la expresión "una mezcla de los HMO que consiste en LNT y 6'SL" se usa en el contexto de la presente invención, tal expresión excluye la presencia de los HMO diferentes de LNT y 6'SL en la mezcla. En particular, la mezcla está desprovista de oligosacáridos N-acetilados, oligosacáridos sialilados, oligosacáridos fucosilados distintos de LNT y 6'SL y precursores de HMO tales como ácido siálico o fucosa. En algunas modalidades, la combinación o composición nutricional está desprovista de oligosacáridos N-acetilados, oligosacáridos sialilados, oligosacáridos fucosilados distintos de LNT y 6'SL y precursores de HMO tales como ácido siálico o fucosa.

En una modalidad preferida de la invención, la mezcla de HMO puede estar presente en una cantidad de 0,15-15 g/L de la composición, tal como 0,5-10 g/L o 0,75-7,5 g/L o 1-5 g/L o 1-2 g/L de la composición. En una modalidad particular, la mezcla de HMO está en una cantidad de 1,5 g/L de la composición. En una modalidad preferida, la mezcla de HMO está en una cantidad de 2 g/l de la composición. Tales cantidades son particularmente adecuadas cuando la composición nutricional está en la forma de una nutrición completa tal como una fórmula infantil, o en el caso de una leche de crecimiento.

En el caso en donde la combinación o composición nutricional esté en forma de polvo, la mezcla de HMO puede estar presente, preferentemente, en una cantidad de 0,11-11 g/100 g de composición en una base de peso seco, tal como 0,4-7,5 g/100 g o 0,6-6 g/l o 0,8-3,8 g/100 g o 0,8-1,5 g/100 g de composición en una base de peso seco. En una modalidad particular, la mezcla de HMO está en una cantidad de 1,1 g/ 100 de composición en una base de peso seco. Tales cantidades son particularmente adecuadas cuando la combinación o composición nutricional está en la forma de una nutrición completa tal como una fórmula infantil, o en el caso de una leche de crecimiento.

En otra modalidad particular, la mezcla de HMO está en una cantidad de 5-500 g/l, 10 a 400 g/l, 40 a 300 g/l, 60-200 g/l, 80-180 g/l, 100-150 g/l o 110-130 g/l de la composición. En una modalidad particular, la mezcla de HMO está en una cantidad de 120 g/l. Tales cantidades son particularmente adecuadas cuando la composición nutricional está en la forma de un suplemento o de un fortificador.

Cuando el suplemento o fortificador está en forma de polvo la mezcla de HMO se proporciona, preferentemente, en la composición nutricional de la presente invención en tal cantidad de 0,05-5 g, 0,1 -4,5 g, 0,15-4 g, 0,2 a 3,5 g, 0,25 a 3, 0,3 a 2,5, 0,35 a 2, 0,4 a 1,5 g, 0,45- 1 g, 0,5 a 0,75 g, por ejemplo 0,6 g por porción.

En una modalidad, la mezcla de HMO se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que el consumo normal de la composición nutricional proporcionaría al infante o niño pequeño, respectivamente al niño que la consume una dosis diaria total de 0,1 a 10 g, tal como 0,2-9 g, 0,3-8 g, 0,4-7 g, 0,5-6 g, 0,6-5 g, 0,8- 3 g, 0,9 -2 g o 1 a 1,5 g por día.

Cuando se combina GOS, 2'FL y DFL, los tres oligosacáridos son considerados responsables del efecto, p. ej., para tratar y/o prevenir el estrés y/o un trastorno del estado de ánimo.

Cuando se combina GOS, LNT y 6'SL, los tres oligosacáridos son considerados responsables del efecto, p. ej., para tratar y/o prevenir el estrés y/o un trastorno del estado de ánimo.

La mezcla de los HMO como se describe en la presente descripción se usa en combinación con GOS.

En una modalidad particular, el GOS se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que una porción de la combinación o composición nutricional proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis total de 0,003-3,9 g, preferentemente 0,006-3 g, 0,05-2,5 g, 0,1-2 g o 0,2-1,5 g, por ejemplo, 0,36 a 1,22 g por porción. Adecuadamente, el GOS se proporciona en la combinación o composición nutricional de la presente invención en tal cantidad que una porción de la combinación o composición nutricional proporcionaría al infante, niño pequeño o niño que la consume una dosis total de 0,001, 0,005, 0,01, 0,005, 0,1, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5 o 4 g por porción, o cualquier rango intermedio formado.

Otros ingredientes

La composición nutricional o la leche de crecimiento de acuerdo con la presente invención puede comprender además otros tipos de oligosacárido(s) (es decir, distintos de los oligosacáridos de la leche humana mencionados anteriormente) y/o una o más fibras y/o uno o más precursores de estos. El otro oligosacárido y/o fibra y/o precursor de este puede seleccionarse de la lista que comprende HMO, fructooligosacáridos (FOS), inulina, xilooligosacáridos (XOS), polidextrosa y cualquier combinación de estos. Pueden estar en una cantidad entre 0 y 10 % en peso de la composición. En una modalidad particular, la composición nutricional o la leche de crecimiento puede contener, además, al menos un BMO (oligosacárido de leche bovina).

Los HMO adicionales que pueden incluirse en la combinación o composición nutricional de acuerdo con la presente invención pueden seleccionarse del grupo que consiste en 3-FL (3-

fucosilactosa), lacto-difucotetraosa (LDFT)), lacto-N-fucopentaosa (p. ej., lacto-N-fucopentaosa I, lacto-N-fucopentaosa II, lacto-N-fucopentaosa III, Lacto-N-fucopentaosa V), lacto-N-fucohexaosa, lacto-N-difucohexaosa I, fucosilacto-N-hexaosa, fucosilacto-N-neohexaosa, difucosilacto-N-hexaosa I, difucosilacto-N-neohexaosa II, para-lacto-N-neohexaosa (para-LNnH), LNnT (lacto-N-neotetraosa), lacto-N-hexaosa, lacto-N-neohexaosa, para-lacto-N-hexaosa, para-lacto-N-neohexaosa, lacto-N-octaosa, lacto-N-neooctaosa, iso- lacto-N-octaosa, para-lacto-N-octaosa, lacto-N-decaosa, 3-SL (3' sialilactosa) y cualquier combinación de estos.

En algunas modalidades, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la invención comprende al menos un HMO adicional. En otras modalidades, la combinación o composición nutricional de acuerdo con la presente invención carece de cualquier HMO adicional.

La composición nutricional de acuerdo con la invención puede contener una fuente de proteína adicional. También pueden usarse fuentes de proteínas basadas en suero de leche, caseína y mezclas de estas, así como fuentes de proteínas basadas en soya (por ejemplo, aislado de proteína de soya de Gushen Biological Techn. Group Co. Ltd) y/o arroz (por ejemplo, HyprolRice Advance de Kerry de Irlanda). En lo que se refiere a las proteínas de suero, la fuente de proteína adicional puede basarse en suero de leche ácido o suero de leche dulce, o mezclas de estos, y puede incluir alfa-lactoalbúmina y beta-lactoglobulina en cualquier proporción deseada. Adecuadamente, la fuente de proteína adicional es caseína, leche descremada o leche entera. Por ejemplo, una receta típica puede combinar leche descremada con la fuente de proteína como se describe anteriormente en la presente para alcanzar la relación deseada caseína:suero de leche.

La composición nutricional de acuerdo con la presente invención contiene, generalmente, una fuente de carbohidrato. Esto se prefiere particularmente en el caso donde la composición nutricional de la invención es una fórmula infantil. En este caso, puede usarse cualquier fórmula de carbohidratos que se encuentra convencionalmente en las fórmulas infantiles, tal como

lactosa, sucrosa, sacarosa, maltodextrina, almidón y mezclas de estos, aunque una de las fuentes preferidas de carbohidratos es la lactosa.

La composición nutricional de acuerdo con la presente invención contiene, generalmente, una fuente de lípidos. Esto es particularmente relevante si la composición nutricional de la invención es una fórmula infantil. En este caso, la fuente de lípidos puede ser cualquier lípido o grasa adecuados para usar en las fórmulas infantiles. Algunas fuentes de grasa adecuadas incluyen aceite de palma, aceite de triglicéridos estructurados, aceite de girasol con alto contenido oleico y aceite de cártamo con alto contenido oleico, aceite de triglicéridos de cadena media. También pueden añadirse los ácidos grasos esenciales ácido linoleico y α -linolénico, así como pequeñas cantidades de aceites que contienen grandes cantidades de ácido araquidónico y ácido docosahexaenoico preformados, tales como aceites de pescado o aceites microbianos. La fuente de grasa puede tener una relación de ácidos grasos n-6 a n-3 de aproximadamente 5:1 a aproximadamente 15:1; por ejemplo, aproximadamente 8:1 a aproximadamente 10:1.

La composición nutricional de la invención también puede contener todas las vitaminas y minerales que se entiende son esenciales en la dieta diaria y en cantidades nutricionalmente significativas. Se han establecido requerimientos mínimos para ciertas vitaminas y minerales. Los ejemplos de minerales, vitaminas y otros nutrientes presentes opcionalmente en la composición de la invención incluyen vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B6, vitamina B12, vitamina E, vitamina K, vitamina C, vitamina D, ácido fólico, inositol, niacina, biotina, ácido pantoténico, colina, calcio, fósforo, yodo, hierro, magnesio, cobre, zinc, manganeso, cloro, potasio, sodio, selenio, cromo, molibdeno, taurina y L-carnitina. Los minerales se añaden usualmente en forma de sal. La presencia y cantidades de minerales específicos y otras vitaminas variarán dependiendo de la población proyectada.

Si es necesario, la composición nutricional de la invención puede contener emulsionantes y estabilizadores tales como soya, lecitina, ésteres de ácido cítrico de mono- y diglicéridos, y lo similar.

La composición nutricional de la invención también puede contener otras sustancias que pueden tener un efecto beneficioso, tales como lactoferrina, nucleótidos, nucleósidos y lo similar.

La composición nutricional de la invención también puede contener carotenoide(s). En algunas modalidades particulares de la invención, la composición nutricional de la invención no comprende ningún carotenoide.

Esta descripción no está limitada por los métodos y materiales ilustrativos descritos en la presente, y cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en la presente puede usarse en la práctica o prueba de modalidades de esta descripción. Los rangos numéricos incluyen los números que definen el rango. A menos que se indique de cualquier otra manera, cualquier secuencia de ácido nucleico se escribe de izquierda a derecha en orientación 5' a 3'; las secuencias de aminoácidos se escriben de izquierda a derecha en orientación amino a carboxi, respectivamente.

Cuando se proporciona un rango de valores, se entiende que cada valor intermedio, hasta la décima parte de la unidad del límite inferior, a menos que el contexto lo indique de cualquier otra manera, entre los límites superior e inferior de ese rango también se describe específicamente. Esta descripción comprende cada rango más pequeño entre cualquier valor establecido o valor intermedio en un rango establecido y cualquier otro valor establecido o valor intermedio en ese rango establecido. Los límites superior e inferior de estos rangos más pequeños pueden incluirse o excluirse independientemente en el rango, y cada rango en el que uno, ninguno o ambos límites están incluidos en los rangos más pequeños también está abarcado dentro de esta descripción, sujeto a cualquier límite específicamente excluido en el rango establecido. Cuando el rango

establecido incluye uno o ambos límites, los rangos que excluyen uno o ambos de esos límites incluidos también se incluyen en esta descripción.

Los expertos en la técnica comprenderán que pueden combinar libremente todas las características de la presente invención descritas en la presente. En particular, las características descritas para el producto de la presente invención pueden combinarse con el método de la presente invención y viceversa. Además, pueden combinarse las características descritas para diferentes modalidades de la presente invención. Donde existen equivalentes conocidos para las características específicas, tales equivalentes se incorporan como si se hubiesen mencionado específicamente en esta especificación.

Otras ventajas y características de la presente invención resultan evidentes a partir de las figuras y ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Se midió la síntesis de melatonina por microbiota intestinal usando un modelo de digestión y fermentación in vitro.

Digestión y fermentación in vitro

Se sometió una matriz láctea a procedimientos de digestión oral, gástrica y del intestino delgado de acuerdo con el método estandarizado INFOGEST 2.0 (Brodkorb A et al. Nature Protocols 2019; 14: 991-1014). Después, se logró la fermentación in vitro durante 24 h en un reactor que contenía:

10 % de la matriz láctea digerida.

80 % del medio de fermentación que contiene microbiota derivada de muestras fecales frescas, recuperada de 3 bebés sanos de 3,2-3,3 años de edad.

10 % de los ingredientes de prueba, que consisten en

- Solo regulador.
- Galactooligosacáridos a la concentración final de 2 g/l.

- Mezcla de 2'FL y DFL (relación 9:1), a una concentración final de 2 g/l.
- Mezcla de LNT y 6'SL (relación 2:1), a una concentración final de 2 g/l.
- Una combinación de (i) GOS y (ii) la mezcla de 2'FL y DFL (relación 9:1), ambos a una concentración final de 2 g/l.
- Una combinación de (i) GOS y (ii) la mezcla de LNT y 6'SL (relación 2:1), ambos a una concentración final de 2 g/l.

Cada combinación se probó por triplicado. Después de 24 horas, se recogió el medio de fermentación para el análisis metabolómico.

Metabolómica

La LC-MS/MS no dirigida se llevó a cabo usando un Thermo Scientific Vanquish LC acoplado a Thermo Q Exactive HF MS. Se usó una interfaz de ionización por electrospray como fuente de ionización. El análisis se realizó en modo de ionización negativa y positiva. La UPLC se realizó usando una versión ligeramente modificada del protocolo descrito por Doneanu et al. (Doneanu, C. E. UPLC/MS Monitoring of Water-Soluble Vitamin Bs in Cell Culture Media in Minutes. (Nota de solicitud de Waters (2011) <https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720004042en.pdf>). Las áreas pico se extrajeron usando Compound Discoverer 3.1 (Thermo Scientific). Además de la extracción automática de compuestos por Compound Discoverer 3.1, se realizó una extracción manual de compuestos incluidos en una biblioteca interna usando Skyline 21.1 (MacCoss Lab Software).

Para cada mezcla B, calculamos $\log_2(\text{melatonina(B)}/\text{melatonina(Leche)})$, es decir, el logaritmo base-2 de la relación entre el valor de melatonina para la mezcla y el valor de melatonina para la leche.

Estadísticas

Se usaron modelos lineales mixtos con intercepciones aleatorias para evaluar el efecto de las mezclas sobre el nivel de cada metabolito.

Se evaluó la exactitud del ajuste usando el R² marginal y el condicional. El R² marginal (coeficiente marginal de determinación) representa la varianza explicada por los efectos fijos mientras que el R² condicional se interpreta como una varianza explicada por todo el modelo, que incluye tanto los efectos fijos como los aleatorios. Además, inspeccionamos los residuos estandarizados de cada modelo para verificar si los valores atípicos en los datos eran potencialmente preocupantes.

El cociente de la varianza entre grupos y la varianza total se denomina correlación intraclase (ICC, por sus siglas en inglés) y estuvo generalmente entre 0,6 y 0,8. Esto también puede interpretarse como la correlación entre observaciones dentro del mismo grupo (donante).

Los valores P, aproximados con el método de Kenward-Roger, se usaron para determinar qué mezclas se asociaron significativamente con el resultado.

Resultados

La exposición del microbioma a la matriz láctea digerida incrementó la abundancia de melatonina, probablemente debido a la presencia de triptófano, precursor de la melatonina. Además de la matriz láctea, la presencia de GOS o una mezcla de LNT y 6'SL no desencadenó ningún efecto sobre la abundancia de melatonina. Por el contrario, en presencia de una mezcla que comprende 2'FL/DFL aumentó la síntesis de melatonina por la microbiota. La combinación de GOS con los HMO aumentó significativamente la cantidad de melatonina secretada, y esta cantidad fue mayor al exponerse a GOS+2'FL/DFL que GOS+LNT/6'SL.

En conjunto, los resultados indican que la combinación de acuerdo con la presente invención juega un papel en la promoción de la biosíntesis de melatonina por la microbiota intestinal.