



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104780785 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201380059274. 1
 (22) 申请日 2013. 09. 12
 (30) 优先权数据
 12382356. 9 2012. 09. 14 EP
 (85) PCT国际申请进入国家阶段日
 2015. 05. 13
 (86) PCT国际申请的申请数据
 PCT/US2013/059488 2013. 09. 12
 (87) PCT国际申请的公布数据
 W02014/043368 EN 2014. 03. 20
 (71) 申请人 雅培制药有限公司
 地址 美国伊利诺伊州
 (72) 发明人 E. V. 埃尔南德斯 R. R. 卡夫雷拉
 R. 巴克 M. R. 冈萨雷斯
 A. B. 佩雷斯
 (74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
 代理人 刘健 林森

(51) Int. Cl.
 A23L 1/30(2006. 01)
 A61K 31/702(2006. 01)
 A61P 25/28(2006. 01)
 A61P 25/00(2006. 01)

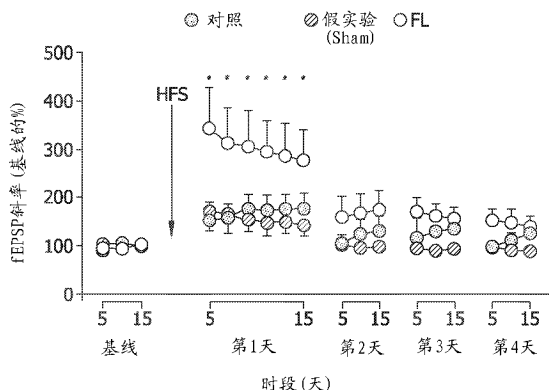
权利要求书1页 说明书17页 附图4页

(54) 发明名称

使用 2- 岩藻糖基乳糖增加脑功能性的方法

(57) 摘要

公开了用于通过诱导个体中的海马神经元突触中的更高的长时程增强来增强学习和 / 或记忆、增强记忆获取、记忆保留和回想的方法。所述方法包括向个体施用 2- 岩藻糖基乳糖。



1. 包含 2- 岩藻糖基乳糖的营养组合物,其用于增强个体中的海马长时程增强响应,所述个体需要更高的长时程增强响应。
2. 权利要求 1 的营养组合物,其中所述个体在生命早期已经经历应激。
3. 权利要求 2 的营养组合物,其中所述应激是急性心理应激。
4. 权利要求 1-3 中任一项的营养组合物,其中所述个体已经被母体剥夺。
5. 权利要求 2 或权利要求 4 的营养组合物,其中所述个体是婴儿。
6. 权利要求 1-5 中任一项的营养组合物,其中所述使用导致个体中学习增强。
7. 权利要求 1-6 中任一项的营养组合物,其中所述使用导致个体中记忆获取和记忆回想增强。
8. 权利要求 1-7 中任一项的营养组合物,其中所述使用导致个体中脑功能性增加。
9. 权利要求 1-8 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是液体,且包含 0.001 mg/mL 至 20 mg/mL 2- 岩藻糖基乳糖。
10. 权利要求 1-8 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是液体,且包含 0.001 mg/mL 至 10 mg/mL 2- 岩藻糖基乳糖。
11. 权利要求 1-8 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是液体,且包含 0.001 mg/mL 至 5 mg/mL 2- 岩藻糖基乳糖。
12. 权利要求 1-8 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是粉末,且以所述粉末的重量计包含 0.0005% 至 5% 2- 岩藻糖基乳糖。
13. 权利要求 1-8 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是粉末,且以所述粉末的重量计包含 0.01% 至 1% 2- 岩藻糖基乳糖。
14. 权利要求 1-13 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物进一步包含脂肪、蛋白质和碳水化合物中的至少一种。
15. 权利要求 1-14 中任一项的营养组合物,其中所述营养组合物是婴儿配方制品。

使用 2-岩藻糖基乳糖增加脑功能性的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

本申请要求 2012 年 9 月 14 日提交的题为“METHODS FOR INCREASING BRAIN FUNCTIONALITY USING 2-FUCOSYL-LACTOSE”的 EP 申请 12382356.9 的优先权和任何其它权益,所述申请的完整公开内容通过引用并入本文。

[0002] 公开领域

本公开涉及人乳寡糖,具体而言,2-岩藻糖基乳糖(2FL),其用于个体中增强学习和/或记忆、增强记忆获取、记忆保留和回想。在一些实施方案中,2FL 可以用于诱导海马神经元突触中的更高的长时程增强。

[0003] 公开背景

长时程增强(LTP)是由同步刺激神经元导致的两个神经元之间信号传递的持久增强。LTP 是作为突触可塑性(化学突触来改变它们的强度的能力)的基础的几种现象之一。在细胞水平,LTP 增强突触传递,因为它改善两个神经元(一个突触前神经元和另一个突触后神经元)跨过突触与彼此通信的能力。因此,LTP 是在化学突触的高频刺激之后突触强度的持久增加。

[0004] 因为学习和记忆(记忆获取和记忆回想两者)被认为由突触强度的修改所编码,所以 LTP 被广泛认为是作为这些功能的基础的主要细胞机制之一。LTP 可负责许多类型的学习,从所有动物中存在的相对简单的经典条件作用,到人类中观察到的更复杂、更高水平的认知。

[0005] 海马是人脑的主要组分,属于边缘系统。海马在从短期记忆到长期记忆和空间导航的信息整合中发挥重要作用。因为不同的神经元细胞类型被整齐地组织到海马各层中,所以它已经经常用作模型系统用于研究神经生理学,具体而言,用于研究 LTP。

[0006] 各种疾病和状况影响海马和其相关功能,诸如认知,包括学习和记忆两者。例如,应激和响应于应激释放的应激相关激素以至少三种方式影响海马:第一,通过降低一些海马神经元的兴奋性;第二,通过抑制齿状回中新神经元的发生;和第三,通过引起 CA3 区域的锥体细胞中树突的萎缩。现在已经存在证据证明,经历应激的人可以影响海马功能,包括可持续一生的学习和记忆。

[0007] 因此,期望提供营养组合物,所述营养组合物为个体提供这样的组分,所述组分可以诱导海马神经元突触中的更高的长时程增强,从而增强认知表现,具体地,记忆获取、记忆保留和记忆回想,其可有助于学习和记忆过程。如果营养组合物可以在生命早期用于尽可能提高整个生命的益处,则也将是有益的。

[0008] 公开概述

本公开涉及使用人乳寡糖(HMO)、具体而言单独或与其它 HMO 组合的 2-岩藻糖基乳糖改善个体(包括婴儿、儿童、成人和老年人)中的脑功能性的方法。具体地,本公开的方法包括将包括 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物施用于个体以诱导海马神经元突触中的更高的长时程增强,从而增强个体中的学习和记忆,包括记忆获取、记忆保留和记忆回想。在一些实施方案中,本文描述的营养组合物和方法可对于婴儿特别有益。

[0009] 在一个实施方案中,本公开涉及增强个体中的学习的方法。所述方法包括向个体施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0010] 在另一个实施方案中,本公开涉及增强个体中的记忆获取和记忆回想的方法。所述方法包括向个体施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0011] 在另一个实施方案中,本公开涉及增加个体中的脑功能性的方法。所述方法包括向个体施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0012] 在另一个实施方案中,本公开涉及诱导个体中海马神经元突触中的更高的长时程增强的方法。所述方法包括向个体施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0013] 在另一个实施方案中,本公开涉及诱导个体中在海马 CA3-CA1 突触处诱发的场兴奋性突触后电位 (field excitatory post-synaptic potentials) 的更高的长时程增强的方法。所述方法包括向个体施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0014] 在另一个实施方案中,本公开涉及改善婴儿中的神经元发育的方法。所述方法包括向婴儿施用包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物。

[0015] 已经出乎预料地发现,单独或与一种或多种其它 HMO 组合的人乳寡糖,具体地,2-岩藻糖基乳糖,可以增强个体(包括婴儿)中的海马 LTP 响应。具体地,2-岩藻糖基乳糖的施用提供了在海马 CA3-CA1 突触处的场兴奋性突触后电位的更高、更持久的增强。此外,通过诱导海马神经元突触中的更高的长时程增强,个体可以经历增强的学习和记忆,包括记忆获取、保留和回想。

[0016] 附图简述

图 1 是描绘如实施例 1 中分析的单突触场兴奋性突触后电位 (fEPSP) 记录的图。

[0017] 图 2 是描绘如实施例 2 中分析的将 2FL 施用于警觉行为大鼠之前和之后在海马 CA3-CA1 突触处诱发的输入 / 输出曲线的图。

[0018] 图 3 是描绘如实施例 2 中分析的将 2FL 施用于警觉行为大鼠之前和之后的成对脉冲刺激的图。

[0019] 图 4 是描绘如实施例 2 中分析的将 2FL 施用于警觉行为大鼠之前和之后的实验诱发的 LTP 的图。

[0020] 图 5 是描绘如实施例 3 中分析的与对照相比施用 DHA 和 2FL 之后的 AChE 水平的图。

[0021] 公开详述

本公开涉及用于诱导海马神经元突触中的更高的长时程增强、增加脑功能性的方法。本方法通常包括将包含 2-岩藻糖基乳糖的营养组合物施用于个体以增强学习和记忆。所述方法可用于维持健康的中枢神经系统,以及牵涉于为个体提供改善的认知功能和 / 或表现。本文描述的组合物和方法可以提供用于增加个体(包括婴儿)的脑功能性的简单且有效的手段。

[0022] 下文详细描述组合物和方法的这些和其它特点,以及许多任选的变化和增加中的一些。

[0023] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“急性心理应激”和“急性应激”可互换用于指响应于恐惧性或创伤性事件引起的心理状况(例如,紧张感、压力、焦虑、不知所措、易怒、神经过敏、不安全感、抑郁、恐慌、疲惫)。“恐惧性事件”或“创伤性事件”是引起个体经

历令人不安或意外的恐惧、应激或疼痛的经历。

[0024] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“早期应激”或“生命早期的应激”可互换用于指个体的生命早期;即在范围从出生到早期青春期的期间过程中的应激经历。“早期青春期”是指生命的 10 岁至 14 岁的期间。

[0025] 术语“蒸煮包装”和“蒸煮灭菌”在本文中可互换使用,且除非另外规定,是指如下常用操作:用营养液填充容器,最通常为金属罐或其它类似包装,然后使该填充液体的包装经受必要的热灭菌步骤,以形成经灭菌的、蒸煮包装的营养液产品。

[0026] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“无菌包装”是指不依靠上述蒸煮包装步骤来制造包装产品,其中营养液和包装在填充之前分别进行灭菌,然后在灭菌或无菌处理条件下组合以形成经灭菌的、无菌包装的营养液产品。

[0027] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“脂肪”和“油”可互换用于指来源于植物或动物或从植物或动物加工的脂质物质。这些术语也包括合成脂质物质,只要此类合成物质适于口服施用于人。

[0028] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“人乳寡糖”或“HMO”通常是指人母乳中发现的许多复杂碳水化合物,其可呈酸性或中性形式,以及是指其前体。示例性非限制性人乳寡糖包括 2-岩藻糖基乳糖、3-岩藻糖基乳糖、3-唾液酸乳糖、6-唾液酸乳糖以及乳糖(lacto)-N-新四糖。示例性人乳寡糖前体包括唾液酸和/或岩藻糖。

[0029] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“储存稳定(shelf stable)”是指营养产品,其经包装然后在 18-24℃下储存至少 3 个月(包括约 6 个月至约 24 个月,并且也包括约 12 个月至约 18 个月)后保持商业稳定。

[0030] 如本文中所使用,术语“营养制剂”或“营养组合物”可互换使用且除非另外规定,是指合成配方制品,包括营养液、营养粉、营养固体、营养半固体、营养半液体、营养补充剂和如本领域中已知的任何其它营养食品。营养粉可重构以形成营养液,其均包含脂肪、蛋白质和碳水化合物中的一种或多种且适于人口服食用。

[0031] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“营养液”是指呈即饮型液体形式、浓缩形式的营养产品,和通过在使用之前重构本文所述的营养粉所制备的营养液。

[0032] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“营养粉”是指呈可流动或可舀取形式的营养产品,其可在食用之前用水或另一含水液体重构且包括喷雾干燥和干混/干掺的粉末。

[0033] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“营养半固体”是指性质(诸如刚性)介于固体与液体之间的营养产品。一些半固体实例包括布丁、明胶和生面团。

[0034] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“营养半液体”是指性质(诸如流动性)介于液体与固体之间的营养产品。一些半液体实例包括稠奶昔(thick shakes)和液体凝胶。

[0035] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“易患”和“处于风险中”意指对某种状况或疾病具有极小抗性,包括具有该状况或疾病的遗传倾向、具有其家族史和/或具有其症状。

[0036] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“调节(modulating)”或“调节(modulation)”或“调节(modulate)”是指对所选特征的定向变动。

[0037] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“认知表现”是指脑的学习、思考和记忆功能(即,记忆获取、记忆保留和回想)。因此,除非另外规定,如本文中所使用,术语“改善认知表现”是指改善个体的学习、思考和/或记忆(记忆获取、记忆保留和记忆回想)功能。

[0038] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“改善认知损害和 / 或脑功能障碍”是指治疗、预防和 / 或降低与年龄相关的认知衰退或神经变性疾病相关的认知衰退的发生率或严重程度。

[0039] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“年龄相关的认知衰退”是指作为衰老的正常后果的学习、思考和 / 或记忆功能的逐渐下降。

[0040] 除非另外规定,如本文中所使用,术语“神经变性疾病”是指神经元的结构或功能的进行性丧失,包括神经元的死亡,并且包括疾病,诸如帕金森氏病、阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病、痴呆、肌萎缩性侧索硬化症、中风和精神分裂症。

[0041] 除非另外规定,如本文中所使用,所有百分数、份数和比例均以总组合物的重量计。除非另外规定,所有此类重量在其涉及所列成分时基于活性水平且因此不包括可包括于市售物质中的溶剂或副产物。

[0042] 如本文中所使用,数值范围意图包括该范围内的每个数目和数目的子集,无论是否明确地公开。此外,这些数值范围应视为对针对该范围内的任何数目或数目的子集的权利要求提供支持。例如,1 至 10 的公开应视为支持 2 至 8、3 至 7、5 至 6、1 至 9、3.6 至 4.6、3.5 至 9.9 等的范围。

[0043] 除非另外规定或提及的上下文相反地清楚暗示,所有对本公开单数特征或限制的提及均应包括相应复数特征或限制,反之亦然。

[0044] 除非另外规定或提及组合的上下文相反地清楚暗示,如本文中所使用,方法或过程步骤的所有组合均可以任何顺序进行。

[0045] 本公开的方法中使用的组合物的多种实施方案也可以基本上无本文所述的任何任选或者选择的成分或特征,条件是其余组合物仍含有如本文所述的所有需要的成分或特征。在这种上下文中,除非另外规定,术语“基本上无”意指选择的营养组合物含有小于功能量的任选成分,典型地小于 1 重量%,包括小于 0.5 重量%,包括小于 0.1 重量%,且还包括 0 重量%的此类任选或选择成分。

[0046] 组合物和方法可包含下列,由下列组成,或基本上由下列组成:如本文所述的组合物和方法的基本要素以及本文所述或另外用于营养产品应用中的任何其它或任选的要素。

[0047] 产品形式

本公开的方法中使用的营养组合物包括岩藻糖基化的人乳寡糖,特别是 2-岩藻糖基乳糖 (2FL),并且可以以任何已知的或其它合适的口服产品形式进行配制和施用。任何固体、液体、半固体、半液体或粉末产品形式(包括其组合或变化)适于本文使用,条件是此类形式允许安全和有效地将如本文又定义的成分口服递送至个体。

[0048] 本公开的方法中使用的组合物被期望地配制成膳食产品形式,其在本文中定义为呈以下产品形式的包含本公开成分的那些实施方案,所述产品形式又含有脂肪、蛋白质和碳水化合物中的至少一种,且优选还含有维生素、矿物质或其组合。

[0049] 营养组合物可以用足够种类和量的营养素配制以提供营养的唯一、主要或补充来源,或提供用于患有特定状况的个体的或具有如下文所述的目标营养益处的特定营养产品。

[0050] 可以适合于根据本公开使用的特定产品的一些示例性、非限制性的实例包括早产儿配方制品、足月儿配方制品、人乳强化剂、儿童配方制品、成人营养配方制品、老年人营养

配方制品、医疗配方制品、老年营养配方制品、糖尿病营养配方制品等等。

[0051] 营养液

营养液包括浓缩和即食型营养液。这些营养液最通常配制成悬浮液或乳状液,尽管其它液体形式也在本公开的范围之内。

[0052] 适合使用的营养乳状液可以是包含蛋白质、脂肪和碳水化合物的含水乳状液。这些乳状液通常在约 1°C 至约 25°C 下为可流动或可饮用液体且通常呈水包油、油包水或复杂含水乳状液形式,尽管此类乳状液最通常呈具有连续水相和不连续油相的水包油乳状液形式。

[0053] 营养乳状液可为且通常为储存稳定的。营养乳状液通常含有营养乳状液的至多 95 重量 % 的水,包括约 50 重量 % 至 95 重量 %,也包括约 60 重量 % 至约 90 重量 %,且也包括约 70 重量 % 至约 85 重量 % 的水。营养乳状液可具有各种产品密度,但最通常具有密度大于 1.03 g/mL,包括大于 1.04 g/mL,包括大于 1.055 g/mL,包括约 1.06 g/ml 至约 1.12 g/mL,且也包括约 1.085 g/ml 至约 1.10 g/mL。

[0054] 营养乳状液可具有适合最终使用者的营养需求的热量密度,尽管在大多数情况下,乳状液通常包含至少 19 kcal/fl oz (660 kcal/升),更通常为约 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/升) 至约 25 kcal/fl oz (820 kcal/升),甚至更通常为约 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/升) 至约 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/升)。通常,22-24 kcal/fl oz 配方制品更常用于早产儿或低出生体重婴儿 (low birth weight infants),且 20-21 kcal/fl oz (675-680 至 700 kcal/升) 配方制品更常用于足月儿。在一些实施方案中,乳状液的热量密度可为约 50-100 kcal/升至约 660 kcal/升,包括约 150 kcal/升至约 500 kcal/升。在一些特定实施方案中,乳状液的热量密度可为 25、或 50、或 75、或 100 kcal/升。

[0055] 营养乳状液的 pH 值可在约 3.5 至约 8 的范围内,但最有利地在约 4.5 至约 7.5 的范围内,包括约 5.5 至约 7.3,包括约 6.2 至约 7.2。

[0056] 尽管营养乳状液的食用份量 (serving size) 可根据许多变量而变化,但典型食用份量通常为至少 1 mL,或甚至至少 2 mL,或甚至至少 5 mL,或甚至至少 10 mL,或甚至至少 25 mL,包括在 1 mL 至约 300 mL 的范围内,包括约 4 mL 至约 250 mL,且包括约 10 mL 至约 240 mL。

[0057] 营养固体

营养固体可呈任何固体形式,但通常呈可流动或实质上可流动微粒组合物或至少微粒组合物形式。特别适合的营养固体产品形式包括喷雾干燥、聚结和 / 或干掺的粉末组合物。所述组合物可轻易用勺或类似其它装置舀取和测量,且可轻易由预期使用者用适合的含水液体 (通常为水) 重构,以形成供立即口服或肠道使用的营养组合物。在此情形下,“立即”使用通常意指在约 48 小时内,最通常在约 24 小时内,优选在重构后立刻。

[0058] 营养粉可在使用之前用水重构至适合最终使用者的营养需求的热量密度,尽管在大多数情况下所述粉末用水重构以形成包含至少 19 kcal/fl oz (660 kcal/升),更通常为约 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/升) 至约 25 kcal/fl oz (820 kcal/升),甚至更通常为约 20 kcal/fl oz (675-680 kcal/升) 至约 24 kcal/fl oz (800-810 kcal/升) 的组合物。通常,22-24 kcal/fl oz 配方制品更常用于早产儿或低出生体重婴儿,且 20-21

kcal/fl oz (675-680 至 700 kcal/升) 配方制品更常用于足月儿。在一些实施方案中, 重构粉末的热量密度可为约 50-100 kcal/升至约 660 kcal/升, 包括约 150 kcal/升至约 500 kcal/升。在一些特定实施方案中, 乳状液的热量密度可为 25、或 50、或 75、或 100 kcal/升。

[0059] 诱导更高的长时程增强 (LTP) 的方法

本公开的方法使用含有岩藻糖基化的人乳寡糖的含营养组合物, 具体而言, 含有 2-岩藻糖基乳糖 (2FL) 的营养组合物, 以诱导个体中海马神经元突触中的更高的长时程增强 (LTP)。如所示, 增强的 LTP 增加个体中的脑功能性, 具体地, 改善认知表现。具体地, 2FL 的施用可通过对有助于学习、思考和记忆的认知功能的记忆获取、记忆保留和记忆回想产生连续作用来改善总体认知。

[0060] 此外, 在一些实施方案中, 营养组合物可用于改善认知损害和 / 或脑功能障碍, 其可以与年龄相关的认知衰退或与神经变性疾病相关的认知衰退相关。具体地, 年龄相关的病况诸如阿尔茨海默氏病对许多类型的认知具有严重影响, 但甚至正常、健康的衰老也与一些类型的记忆 (包括情景记忆和工作记忆) 的逐渐衰退相关。因为海马被认为在记忆中发挥中心作用, 所以在年龄相关的衰退可以由海马恶化引起的可能性中已经存在相当大的兴趣。具体地, 已经报道了海马的大小和记忆表现之间的可靠关系—意味着不是所有老年人都显示海马萎缩, 但的确倾向于在某些记忆任务方面表现没有那么好的那些老年人显示海马萎缩。还存在老年人中记忆任务倾向于产生比年轻受试者中更少的海马激活的报道。进一步, 在大鼠中 (其中细胞生理学的详细研究是可能的), 已经发现衰老以几种方式改变突触连接性。功能性突触在齿状回和 CA1 区中损失, 并且 NMDA 受体介导的响应降低。这些变化可以导致长时程增强的诱导和维持的缺陷。与突触可塑性相关的几个基因的海马表达中还存在年龄相关的下降。受海马功能影响的其它相关病症包括亨廷顿氏病、帕金森氏病、痴呆、肌萎缩性侧索硬化症、中风和 / 或精神分裂症。因此, 通过增强海马活性, 本公开的方法可用于减少 / 预防 / 控制 / 治疗与这些疾病和状况相关的认知损害和 / 或脑功能障碍。

[0061] 尽管在一些实施方案中, 本公开的方法可涉及具有神经变性疾病或状况或与神经变性疾病或状况相关的疾病或状况的个体, 但在一些实施方案中, 如本文所述的本公开的方法也意在包括此类方法在“处于风险中”的个体 (包括不受神经变性疾病或状况诸如上述那些影响或不以其它方式受神经变性疾病或状况诸如上述那些折磨的个体) 中用于预防、尽可能降低或延迟此类疾病或状况随着时间推移的发展的目的的用途。出于此类预防目的, 本公开的方法优选包括连续每日施用如本文所述的组合物。此类预防性方法可以针对由于遗传考虑、环境考虑等易于发展神经变性疾病的成人或其他人, 特别是老年人 (50 岁或以上)。

[0062] 此外, 本公开的方法可用于减少 / 预防 / 控制 / 治疗与心理应激相关的认知损害和 / 或脑功能障碍。具体地, 如上所示, 应激和激素 (例如, 皮质甾酮, 皮质醇等) 的应激释放通过降低一些海马神经元的兴奋性、抑制齿状回中新神经元的发生和引起 CA3 区域的锥体细胞中树突的萎缩影响海马。进一步, 存在证据证明, 在出生后不久经历的应激 (即, 早期应激) 可以以持续一生的方式影响海马功能。

[0063] 2-岩藻糖基乳糖 (2FL) 可以施用于需要诱导更高 LTP 和 / 或增强学习和记忆的个体的子集。具体需要更高 LTP 和 / 或增强学习和记忆的一些个体可以包括经历急性心理应

激或应激事件的婴儿、儿童、青少年或成人（易于经历急性心理应激或应激事件或处于经历急性心理应激或应激事件的升高风险的婴儿、儿童、青少年或成人），在生命早期经历急性心理应激的婴儿、儿童、青少年或成人，非母乳喂养的婴儿，长期抑郁的婴儿、儿童、青少年或成人（易患慢性抑郁或处于慢性抑郁的升高风险的婴儿、儿童、青少年或成人），受创伤后应激综合征影响的婴儿、儿童、青少年或成人（易患创伤后应激综合征或处于创伤后应激综合征的升高风险的婴儿、儿童、青少年或成人），受神经变性疾病或状况诸如阿尔茨海默氏病、亨廷顿氏病、帕金森氏病、痴呆、肌萎缩性侧索硬化症、中风和 / 或精神分裂症影响的婴儿、儿童、青少年或成人（易患神经变性疾病或状况或处于神经变性疾病或状况的升高风险的婴儿、儿童、青少年或成人），受年龄相关的认知衰退影响的成人（易患年龄相关的认知衰退或处于年龄相关的认知衰退的升高风险的成人）等。早产儿、婴儿、儿童、青少年、成人和老年人可能由于家族史、年龄、环境和 / 或生活方式而易患上述疾病或状况或处于上述疾病或状况的升高风险中。基于上述情况，因为本公开的一些的方法实施方案涉及经鉴定的个体的特定子集或亚类（即，在解决本文中指出的一种或多种特定状况中“需要”帮助的个体的子集或亚类），所以不是所有个体都将落在对于某些疾病或状况的本文所述的个体的子集或亚类中。

[0064] 所述个体期望地每天食用至少一食用份组合物，并且在一些实施方案中，可以每天食用两份、三份、或甚至更多食用份。每个食用份期望地作为单一、未分开的剂量来施用，尽管所述食用份还可被分成两个或更多部分或分开的食用份以便在一天内以两次或更多次服用。本公开的方法包括连续逐天施用以及定期或受限施用，尽管连续逐天施用通常是期望的。本公开的方法优选基于每日应用，其中每日施用持续维持至少 3 天，包括至少 5 天，包括至少 1 个月，包括至少 4 周，包括至少 8 周，包括至少 2 个月，包括至少 6 个月，期望地至少 18-24 个月，期望地作为长期、连续、每日膳食补充剂。

[0065] 2-岩藻糖基乳糖 (2FL)

本公开用于诱导增强的海马 LTP 的方法利用包括 2-岩藻糖基乳糖 (2FL) 的组合物。组合物中使用的 2FL 可以从哺乳动物分泌的乳中分离或富集，所述哺乳动物包括，但不限于：人、牛、羊、猪或山羊物种。2FL 也可以经由微生物发酵、酶促处理、化学合成或其组合产生。

[0066] 2FL 以以下量 (mg 2FL/mL 组合物) 存在于组合物中：组合物中至少 0.001 mg/mL，包括至少 0.01 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 20 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 20 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 10 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 10 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 5 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 5 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 1 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 0.23 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 0.23 mg/mL 2FL。通常，组合物中存在的 2FL 的量将取决于组合物中的其它组分的量，包括如下所述的任何任选的其它人乳寡糖的量。

[0067] 在一个具体实施方案中，当组合物为营养粉时，营养粉中 2FL 的浓度为约 0.0005% 至约 5%，包括约 0.01% 至约 1% (以营养粉的重量计)。

[0068] 在另一个具体实施方案中，当产品为即食型营养液时，即食型营养液中 2FL 的浓度为约 0.0001% 至约 0.50%，包括约 0.001% 至约 0.15%，包括约 0.01% 至约 0.10%，且进一步包括约 0.01% 至约 0.03% (以即食型营养液的重量计)。

[0069] 在另一个具体实施方案中，当产品为浓缩营养液时，浓缩营养液中 2FL 的浓度为

约 0.0002% 至约 0.60%，包括约 0.002% 至约 0.30%，包括约 0.02% 至约 0.20%，且进一步包括约 0.02% 至约 0.06%（以浓缩营养液的重量的重量计）。

[0070] 任选额外的唾液酸化或岩藻糖基化的人乳寡糖

除了上述 2FL 以外，组合物可以任选地包括额外的唾液酸化或岩藻糖基化的人乳寡糖。组合物中使用的额外的一种或多种人乳寡糖可从哺乳动物分泌的乳中分离或富集，所述哺乳动物包括但不限于：人、牛、羊、猪或山羊物种。人乳寡糖也可经由微生物发酵、酶促方法、化学合成或其组合来产生。

[0071] 适合用于组合物中任选使用的唾液酸化的人乳寡糖在寡糖骨架中包括至少一个唾液酸残基。唾液酸化的人乳寡糖还可以包括两个或更多个唾液酸残基。用于本公开中使用的唾液酸化的人乳寡糖的特定非限制性实例包括唾液酸寡糖、唾液酸（即，游离唾液酸、脂质结合唾液酸、蛋白质结合唾液酸）、乳糖唾液酸四糖（lactosialotetraose）、3'-唾液酸-3-岩藻糖基乳糖、二唾液酸单岩藻糖基乳糖-N-新六糖、单岩藻糖基单唾液酸乳糖-N-八糖（唾液酸 Lea）、唾液酸乳糖-N-岩藻六糖 II、二唾液酸乳糖-N-岩藻五糖 II、单岩藻糖基二唾液酸乳糖-N-四糖）、唾液酸岩藻糖基寡糖、2'-唾液酸乳糖、2-唾液酸乳糖胺、3'-唾液酸乳糖、3'-唾液酸乳糖胺、6'-唾液酸乳糖、6'-唾液酸乳糖胺、唾液酸乳糖-N-新四糖 c、单唾液酸乳糖-N-六糖、二唾液酸乳糖-N-六糖 I、单唾液酸乳糖-N-新六糖 I、单唾液酸乳糖-N-新六糖 II、二唾液酸乳糖-N-新六糖、二唾液酸乳糖-N-四糖、二唾液酸乳糖-N-六糖 II、唾液酸乳糖-N-四糖 a、二唾液酸乳糖-N-六糖 I、唾液酸乳糖-N-四糖 b、唾液酸-乳糖-N-四糖 a、唾液酸-乳糖-N-四糖 b、唾液酸-乳糖-N-四糖 c、唾液酸-岩藻糖基-乳糖-N-四糖 I、唾液酸-岩藻糖基-乳糖-N-四糖 II、二唾液酸-乳糖-N-四糖及其组合。特别期望的唾液酸化的人乳寡糖包括 3' 唾液酸乳糖、6' 唾液酸乳糖及其组合。

[0072] 用于本公开中使用的额外任选的岩藻糖基化的人乳寡糖的特定非限制性实例包括岩藻糖基寡糖，乳糖-N-岩藻五糖 I、乳糖-N-岩藻五糖 II、3'-岩藻糖基乳糖、乳糖-N-岩藻五糖 III、乳糖-N-二岩藻六糖 I、乳糖二岩藻四糖、单岩藻糖基乳糖-N-六糖 II、异构岩藻糖基化乳糖-N-六糖 (1)、异构岩藻糖基化乳糖-N-六糖 (3)、异构岩藻糖基化乳糖-N-六糖 (2)、二岩藻糖基-对-乳糖-N-新六糖、二岩藻糖基-对-乳糖-N-六糖、二岩藻糖基乳糖-N-六糖单岩藻糖基乳糖-新八糖、单岩藻糖基乳糖-N-八糖、二岩藻糖基乳糖-N-八糖 I、二岩藻糖基乳糖-N-八糖 II、二岩藻糖基乳糖-N-新八糖 II、二岩藻糖基乳糖-N-新八糖 I、乳糖-N-岩藻五糖 V、乳糖-N-十糖（decaose）、三岩藻糖基乳糖-N-新八糖、三岩藻糖基乳糖-N-八糖、三岩藻糖基-异-乳糖-N-八糖、乳糖-N-二岩藻-六糖 II 及其组合。

[0073] 用于本公开的方法中使用的营养组合物中可以包括的人乳寡糖的其它合适的实例包括乳糖-N-六糖、对-乳糖-N-六糖、乳糖-N-新六糖、对-乳糖-N-新六糖、乳糖-N-新八糖、对-乳糖-N-八糖（octanose）、异-乳糖-N-八糖、乳糖-N-八糖及其组合。

[0074] 唾液酸化和岩藻糖基化的人乳寡糖（包括 2FL）可以以组合物中总的人乳寡糖的至少 0.001 mg/mL，包括至少 0.01 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 20 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 20 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 10 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 10 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 5 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 5 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 1 mg/mL，包括 0.001 mg/mL 至约 0.23 mg/mL，包括约 0.01 mg/mL 至约 0.23 mg/mL 的组合

物中人乳寡糖的总量（每 mL 组合物中人乳寡糖的 mg）存在于组合物中。通常，组合物中存在的特定唾液酸化的人乳寡糖和 / 或岩藻糖基化的人乳寡糖（包括 2FL）的量将取决于存在的一种或多种特定人乳寡糖和组合物中其它组分的量，包括任何任选的人乳寡糖的量。

[0075] 大量营养素

包括 2FL 的组合物可配制为包括脂肪、蛋白质和碳水化合物中的至少一种。在许多实施方案中，营养组合物将包括 2FL 与脂肪、蛋白质和碳水化合物。

[0076] 尽管脂肪、蛋白质和碳水化合物的总浓度或量可根据产品类型（即，人乳强化剂、早产儿配方制品、婴儿配方制品、儿童配方制品、成人配方制品、医疗配方制品等）、产品形式（即，营养固体、粉末、即食型液体或浓缩液体）和预期使用者的目标膳食需求而变化，但此类浓度或量最通常落在以下实施范围之一内，包括如本文所述的任何其它基本脂肪、蛋白质和 / 或碳水化合物成分。

[0077] 对于婴儿和成人配方制品，碳水化合物浓度最通常在约 5 重量 % 至约 40 重量 % 的范围内，包括约 7 重量 % 至约 30 重量 %，包括约 10 重量 % 至约 25 重量 %；脂肪浓度最通常在约 1 重量 % 至约 30 重量 % 的范围内，包括约 2 重量 % 至约 15 重量 %，且也包括约 3 重量 % 至约 10 重量 %；和蛋白质浓度最通常在约 0.5 重量 % 至约 30 重量 % 的范围内，包括约 1 重量 % 至约 15 重量 %，且也包括约 2 重量 % 至约 10 重量 %。

[0078] 本文所述的任何液体营养组合物中脂肪、蛋白质和 / 或碳水化合物的量也可除了如下表中所示作为占液体营养组合物总卡路里的百分数外的方式或以替代方式来表征。用于本公开液体营养组合物的这些大量营养素最通常在下表中所述的任何热量范围（实施方案 A-F）内配制（在每个数值前置术语“约”）。

营养素 % 总卡路里	实施方案 A	实施方案 B	实施方案 C
碳水化合物	0-98	2-96	10-75
蛋白质	0-98	2-96	5-70
脂肪	0-98	2-96	20-85
	实施方案 D	实施方案 E	实施方案 F
碳水化合物	30-50	25-50	25-50
蛋白质	15-35	10-30	5-30
脂肪	35-55	1-20	2-20

[0079] 在一个具体实施方案中，液体婴儿配方制品（即食型和浓缩液体二者）包括如下那些实施方案，其中蛋白质组分可占配方制品热量含量的约 7.5% 至约 25%；碳水化合物组分可占婴儿配方制品总热量含量的约 35% 至约 50%；且脂肪组分可占婴儿配方制品总热量含量的约 30% 至约 60%。这些范围仅作为实例提供，且不欲限制。其它适合的范围如下表中所示（在每个数值前置术语“约”）。

营养素 % 总卡路里	实施方案 G	实施方案 H	实施方案 I
碳水化合物：	20-85	30-60	35-55
脂肪：	5-70	20-60	25-50
蛋白质：	2-75	5-50	7-40

[0080] 当营养产品为粉末早产儿或足月儿配方制品时，以早产儿或足月儿配方制品的重量计，蛋白质组分存在的量为约 5% 至约 35%，包括约 8% 至约 12%，且包括约 10% 至约 12%；以早产儿或足月儿配方制品的重量计，脂肪组分存在的量为约 10% 至约 35%，包括约 25% 至约 30%，且包括约 26% 至约 28%；和以早产儿或足月儿配方制品的重量计，碳水化合物组分存在的量为约 30% 至约 85%，包括约 45% 至约 60%，包括约 50% 至约 55%。

[0081] 对于粉末人乳强化剂,以人乳强化剂的重量计,蛋白质组分存在的量为约 1% 至约 55%,包括约 10% 至约 50%,且包括约 10% 至约 30%;以人乳强化剂的重量计,脂肪组分存在的量为约 1% 至约 30%,包括约 1% 至约 25%,且包括约 1% 至约 20%;和以人乳强化剂的重量计,碳水化合物组分存在的量为约 15% 至约 75%,包括约 15% 至约 60%,包括约 20% 至约 50%。

[0082] 本文使用的粉末营养组合中脂肪、碳水化合物和蛋白质的总量或浓度可根据所选组合物和预期使用者的膳食或医疗需求而显著变化。下文阐述大量营养素浓度的其它适合实例。在此情形下,总量或浓度是指粉末产品中的所有脂肪、碳水化合物和蛋白质来源。对于粉末营养组合物,此类总量或浓度最通常且优选以下表中所述的任何具体范围来配制(在每个数值前置术语“约”)。

营养素 % 总卡路里	实施方案 J	实施方案 K	实施方案 L
碳水化合物	1-85	30-60	35-55
脂肪	5-70	20-60	25-50
蛋白质	2-75	5-50	7-40

[0083] 脂肪

本公开的方法中使用的营养组合物可包括一种或多种脂肪来源。适合用于本文中的脂肪来源包括适合用于口服营养产品中且与此类产品的要素和特点相容的任何脂肪或脂肪来源。例如,在一个特定实施方案中,脂肪来源于长链多不饱和脂肪酸和 / 或短链脂肪酸。

[0084] 用于本文所述的营养产品中的合适脂肪或其来源的其它非限制性实例包括椰子油、分馏椰子油、大豆油、玉米油、橄榄油、红花油、高油酸红花油、油酸 (EMERSOL 6313 OLEIC ACID, Cognis Oleochemicals, Malaysia)、MCT 油(中链甘油三酯)、向日葵油、高油酸向日葵油、棕榈和棕榈仁油、棕榈油精 (palm olein)、芥花籽油 (canola oil)、海洋油 (marine oils)、鱼油、真菌油、藻类油、棉籽油及其组合。

[0085] 蛋白质

本公开的方法中使用的营养组合物可任选进一步包含蛋白质。适合用于口服营养组合物且与此类产品的要素和特点相容的任何蛋白质来源适合用于营养组合物中。

[0086] 用于营养产品中的合适蛋白质或其来源的非限制性实例包括水解、部分水解或非水解蛋白质或蛋白质来源,其可来源于任何已知或另外适合的来源,例如乳(例如,酪蛋白、乳清)、动物(例如,肉、鱼)、谷类(例如,稻、玉米)、植物(例如,大豆、豌豆)或其组合。此类蛋白质的非限制性实例包括乳蛋白分离物、如本文所述的乳蛋白浓缩物、酪蛋白分离物、高度水解酪蛋白、乳清蛋白、酪蛋白酸钠或酪蛋白酸钙、全牛乳、部分或完全脱脂乳、大豆蛋白分离物、大豆蛋白浓缩物、完整豌豆蛋白浓缩物、完整豌豆蛋白分离物、水解豌豆蛋白浓缩物、水解豌豆蛋白分离物等。在一个具体实施方案中,营养组合物包括来源于人和 / 或牛来源的乳蛋白的蛋白质来源。

[0087] 碳水化合物

如本公开的方法中使用的营养产品可进一步任选包含适合用于口服营养产品中且与此类产品的要素和特点相容的任何碳水化合物。

[0088] 用于本文所述的营养产品中的合适碳水化合物或其来源的非限制性实例可包括麦芽糊精、水解或改性淀粉或玉米淀粉、葡萄糖聚合物、玉米糖浆、玉米糖浆固体、来源于稻的碳水化合物、来源于豌豆的碳水化合物、来源于马铃薯的碳水化合物、木薯淀粉、蔗糖、葡萄糖、果糖、乳糖、高果糖玉米糖浆、蜂蜜、糖醇(例如,麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇)、人

造甜味剂（例如，三氯蔗糖、乙酰磺胺酸钾、甜菊糖（stevia））及其组合。特别期望的碳水化合物为低葡萄糖当量（DE）麦芽糊精。

[0089] 其它任选成分

如本公开的方法中使用的营养组合物可进一步包含其它任选的组分，其可改变产品的物理、化学、美观或加工特征或当用于目标群体时充当药物或其它营养组分。许多此类任选成分为已知的或另外适合用于医疗食物或其它营养产品或药物剂型中且也可用于本文的组合物中，条件是此类任选的成分对于口服施用为安全的且与所选产品形式中的基本和其它成分相容。

[0090] 此类任选的成分的非限制性实例包括防腐剂、乳化剂、缓冲剂、果寡糖、半乳寡糖、聚右旋糖（polydextrose）和其它益生元（prebiotics）、益生菌（probiotics）、药物活性剂、抗炎剂、如本文所述的其它营养素、着色剂、调味剂、增稠剂和稳定剂、乳化剂、润滑剂等。

[0091] 营养组合物可进一步包含甜味剂，优选包括至少一种糖醇，诸如麦芽糖醇、赤藓糖醇、山梨糖醇、木糖醇、甘露糖醇、异麦芽酮糖醇（isomalt）和乳糖醇，且也优选包括至少一种人造或高效力甜味剂，诸如乙酰磺胺酸钾、阿斯巴甜、三氯蔗糖、糖精、甜菊糖和塔格糖。这些甜味剂，尤其是糖醇与人造甜味剂的组合，尤其用于配制具有所需味道概况的液体饮料实施方案。这些甜味剂组合尤其有效掩蔽有时与液体饮料中添加植物蛋白相关的不受欢迎的味道。以营养产品的重量计，营养产品中任选的糖醇浓度的范围可为至少 0.01%，包括约 0.1% 至约 10%，且也包括约 1% 至约 6%。以营养产品的重量计，任选的人造甜味剂浓度的范围可为至少 0.01%，包括约 0.05% 至约 5%，也包括约 0.1% 至约 1.0%。

[0092] 流动剂或防结块剂可包括在如本文所述的营养组合物中以延缓粉末随时间凝块或结块并使得粉末实施方案容易从其容器流出。已知或另外适合用于营养粉或产品形式中的任何已知流动剂或防结块剂适用于本文，其非限制性实例包括磷酸三钙、硅酸盐及其组合。营养组合物中流动剂或防结块剂的浓度根据产品形式、其它所选成分、期望的流动性质等而变化，但以营养组合物的重量计，最通常的范围可为约 0.1% 至约 4%，包括约 0.5% 至约 2%。

[0093] 稳定剂也可包括在营养组合物中。已知或另外适合用于营养组合物中的任何稳定剂也适用于本文，其一些非限制性实例包括胶，诸如黄原胶（xanthan gum）。以营养组合物的重量计，稳定剂可占约 0.1% 至约 5.0%，包括约 0.5% 至约 3%，包括约 0.7% 至约 1.5%。

[0094] 营养组合物可进一步包含各种其它维生素或相关营养素中的任一种，其非限制性实例包括维生素 A、维生素 D、维生素 E、维生素 K、硫胺素、核黄素、吡哆醇、维生素 B₁₂、类胡萝卜素（例如，β-胡萝卜素、玉米黄素、叶黄素、番茄红素）、烟酸、叶酸、泛酸、生物素、维生素 C、胆碱、肌醇、其盐和衍生物及其组合。

[0095] 营养组合物可进一步包含各种其它另外矿物质中的任一种，其非限制性实例包括钙、磷、镁、铁、锌、锰、铜、钠、钾、钼、铬、氯化物及其组合。

[0096] 制造方法

本公开的方法中使用的营养组合物可通过用于制备所选产品固体或液体形式的任何已知或另外有效的制造技术来制备。已知用于任何给定产品形式（诸如营养液或营养粉）的许多此类技术且其可容易由本领域普通技术人员应用于本文所述的营养组合物。

[0097] 因此,本公开的方法中使用的营养组合物可通过各种已知或另外有效配制或制造方法中的任一种来制备。在一种适合的制造方法中,例如制备至少三种单独的浆料,包括脂肪包蛋白质 (protein-in-fat, PIF) 浆料、碳水化合物-矿物质 (CHO-MIN) 浆料和水包蛋白质 (protein-in-water, PIW) 浆料。PIF 浆料通过加热和混合油 (例如,芥花籽油、玉米油等),然后在持续加热和搅拌下添加乳化剂 (例如,卵磷脂)、脂溶性维生素和一部分总蛋白质 (例如,乳蛋白浓缩物等) 来形成。CHO-MIN 浆料通过在加热搅拌下将以下添加至水中来形成:矿物质 (例如,柠檬酸钾、磷酸氢二钾、柠檬酸钠等)、痕量和超痕量矿物质 (TM/UTM 预混物)、增稠剂或悬浮剂 (例如微晶粉末纤维素、结冷胶、角叉菜胶)。所得的 CHO-MIN 浆料在持续加热和搅拌下保持 10 分钟,然后添加其它矿物质 (例如,氯化钾、碳酸镁、碘化钾等) 和 / 或碳水化合物 (例如,2FL、果寡糖、蔗糖、玉米糖浆等)。然后 PIW 浆料通过在加热和搅拌下与其余蛋白质 (若存在) 混合来形成。

[0098] 然后将得到的浆料在加热搅拌下掺合在一起并将 pH 调至 6.6-7.0,随后对组合物进行高温短时 (HTST) 处理,在此期间将组合物热处理、乳化和均质化,然后使其冷却。添加水溶性维生素和抗坏血酸,必要时将 pH 调至所需范围,添加调味剂,并添加水以达到所需的总固体水平。然后无菌包装组合物以形成无菌包装的营养乳状液。然后可进一步稀释、热处理和包装该乳状液以形成即食型或浓缩液体,或可将其热处理并随后作为可重构的粉末 (例如喷雾干燥、干混、聚结粉末) 加工和包装。

[0099] 营养固体诸如喷雾干燥的营养粉或干混的营养粉可通过适于制备和配制营养粉的任何已知或另外有效技术的集合来制备。

[0100] 例如,当营养粉为喷雾干燥的营养粉时,喷雾干燥步骤可同样包括已知或另外适合用于制造营养粉的任何喷雾干燥技术。已知许多不同喷雾干燥方法和技术用于营养领域,其全部均适合用于制造本文的喷雾干燥的营养粉。

[0101] 一种制备喷雾干燥的营养粉的方法包括形成和均质化包含预先消化的脂肪和任选蛋白质、碳水化合物和其它脂肪来源的含水浆料或液体,然后喷雾干燥该浆料或液体以产生喷雾干燥的营养粉。该方法可进一步包括喷雾干燥、干混或另外向喷雾干燥的营养粉中添加其它营养成分 (包括本文所述的任一种或多种成分) 的步骤。

[0102] 其它适合用于制备营养产品的方法例如描述于美国专利号 6,365,218 (Borschel 等)、美国专利号 6,589,576 (Borschel 等)、美国专利号 6,306,908 (Carlson 等)、美国专利申请号 20030118703 A1 (Nguyen 等) 中,其说明书在其与此一致的程度通过引用并入本文。

实施例

[0103] 以下实施例说明本公开的方法中使用的营养组合物的特定实施方案和 / 或特征。提供所述实施例仅出于说明的目的而并不应理解为限制本公开,因为在不脱离本公开的精神和范围的情况下其许多变化是可以的。除非另外规定,所有示例性的量均为基于组合物的总重量的重量百分数。

[0104] 示例性的组合物为根据本文所述的制造方法制备的储存稳定的营养组合物,从而使得除非另外规定,各示例性的组合物包括无菌处理的实施方案和蒸煮包装的实施方案。

[0105] 实施例 1

在本实施例中,分析 2-岩藻糖基乳糖对早期应激的母体剥夺 (maternally deprived) 小鼠的海马 LTP 响应的影响。

[0106] 最初,小鼠幼仔使用母体分离的模型进行早期应激。具体地,在分娩后一天,将 C57BL/6 小鼠幼仔区分性别且分组为假实验 (sham) (未应激的对照组) 或母体分离 (MS - 应激组) 的动物。从分娩后第 2 天直到第 14 天,将 MS 幼仔从母兽 (dam) 移出且在恒温杯保持隔离每天 4 小时的时间段,通常,从 10:00 AM 到 2:00 PM。在相同时间段过程中,将来自假实验组的幼仔每天操作五分钟的时间段,以便与 MS 幼仔接受对研究者的手的相同程度的习惯。

[0107] 每只母兽具有 4 个雄性和 2 个雌性的一窝仔 (litters)。允许雌性与母亲留在一起,而将雄性进行母体剥夺,以便避免通过移出所有幼仔而使母兽应激。此外,在出生后第 17 天,将来自 MS 组的幼仔过早断奶,并因此从母兽永久性移出,而假实验幼仔直到出生后第 21 天才断奶。在出生后第 22 天,将 MS 组中的所有幼仔合并,且在开始营养干预之前准备两个实验组。总共三个组显示在下表中。

实验组	实验条件
假实验对照组	接受 AIN-93G 膳食和水的未 MS 应激的正常小鼠
MS 对照组	接受 AIN-93G 膳食和水的 MS 应激的小鼠
MS 2-岩藻糖基乳糖组	接受补充 2-岩藻糖基乳糖 (~7 mg/天/小鼠) 的 AIN93G 膳食和水的 MS 应激的小鼠

[0108] 在营养干预阶段,向小鼠饲喂实验膳食 8 周的时间段。八周后,将小鼠麻醉并在海马植入刺激和记录电极。具体地,遵循立体坐标以便将刺激电极植入动物,所述刺激电极针对背侧海马的 Schaffer 侧支-合缝通路 (collateral-commissural pathway) (在前囟侧方 2 mm 和后方 1.5 mm ;距脑表面 1.0-1.5 mm 深度)。此外,将记录电极植入小鼠,所述记录电极针对 CA1 区下方的同侧辐射层 (在前囟侧方 1.2 mm 和后方 2.2 mm ;距脑表面 1.0-1.5 mm 深度)。使用在同侧 Schaffer 侧支通路提供的成对 (20-50 ms 的时间间隔) 脉冲诱发的场电位深度分布作为引导将电极手术植入 CA1 区。将记录电极固定在记录可靠单突触场兴奋性突触后电位 (fEPSP) 的部位。将 0.1 mm 裸银线固定至头盖骨作为接地线 (ground)。将导线连接至两个四针插座 (获得自 RS-Amidata, Madrid, Spain)。还将接地导线用单一导线连接至记录系统。将插座在两个小螺丝和牙科粘合剂的帮助下固定至头盖骨。

[0109] 记录使用带宽为 0.1 Hz - 10 kHz 的 Grass P511 差分放大器 (Grass-Telefactro, West Warwick, Rhode Island) 实施。CA1 区中的突触场电位由施加至 Schaffer 侧支的成对 (40 ms 的时间间隔) 100 μ s、正方形、双相 (负-正) 脉冲诱发。刺激强度范围为 50 至 350 μ A。对于每只动物,将刺激强度设定为远低于诱发群峰电位的阈值,通常为诱发最大 fEPSP 响应所需的强度的 30-40%。用于选择刺激强度的额外标准是在条件反射脉冲后 20-50 ms 提供的第二刺激诱发了较大 (> 20%) 的突触场电位。

[0110] 为了诱发 LTP,为每只动物提供五个 200 Hz、100 μ s 队列 (trains) 的脉冲,速率为 1/s。这些队列总共提供六次,时间间隔为一分钟。以用于诱发基线记录的同强度施加用于诱发 LTP 的 100 μ s、正方形、双相脉冲。用每 20 s 提供的成对刺激收集基线记录 15 分钟。然后,再次记录 fEPSP 30 分钟。在随后三天期间,每 15 分钟实施额外记录。结果显示在图 1 中。

[0111] 如图 1 中所示,当与对照组相比时,饲喂 2FL 的组表现出在海马 CA3-CA1 突触处诱发的场兴奋性突触后电位的更大、更持久的增强 ($p < 0.05$)。

[0112] 实施例 2

在本实施例中,分析 2FL 对警觉行为大鼠中的海马 CA3-CA1 突触的 LTP 的影响。

[0113] 动物和组别

将总共四只雄性 Sprague Dawley 大鼠(每只 2 个月大,重 150-200 g),放置单独笼子中,自由获取食物和水。将大鼠保持在 12/12 小时光/暗周期,具有恒定的环境温度($22\pm 1^{\circ}\text{C}$)和湿度($50\pm 7\%$)。所有测试均在光周期期间进行。

[0114] 手术和电极植入程序

将大鼠用经由自制面具递送的 0.8% - 3% 异氟烷(购自 AstraZeneca, Madrid, Spain) 进行麻醉。以 1-4 L/min 氧气的流速从校准的 Fluotec 5 蒸发器(购自 Fluotec-Ohmeda, Tewksbury, MA) 施用氟烷。一旦麻醉,将刺激和记录电极植入大鼠的海马中。具体地,遵循立体坐标以便将三个刺激电极(由购自 Advent Research Materials Ltd., Eynsham, England 的 50 μm Teflon 涂覆的钨丝制成)植入大鼠,所述刺激电极针对背侧海马的右侧(对侧) Schaffer 侧支-合缝通路(在前囟侧方 3.5 mm 和后方 3.2 mm)。此外,将四个记录电极(由购自 Advent Research Materials Ltd., Eynsham, England 的 50 μm Teflon 涂覆的钨丝制成)植入大鼠,所述记录电极针对 CA1 区下方的同侧辐射层(在前囟侧方 2.5 mm 和后方 3.6 mm)。使用在同侧 Schaffer 侧支通路提供的成对(20-50 ms 的时间间隔)脉冲诱发的场电位深度分布作为引导将电极手术植入 CA1 区。将记录电极固定在记录可靠单突触场兴奋性突触后电位(fEPSP)的部位。将 0.1 mm 裸银线固定至头盖骨作为接地线(ground)。将导线连接至两个插座(获得自 RS-Amidata, Madrid, Spain)。还将接地导线用单一导线连接至记录系统。将插座在两个小螺丝和牙科粘合剂的帮助下固定至头盖骨。

[0115] 记录使用带宽为 0.1 Hz - 10 kHz 的 Grass P511 差分放大器(Grass-Telefactor, West Warwick, RI) 实施。CA1 区中的突触场电位由施加至 Schaffer 侧支的成对(40 ms 的时间间隔) 100 μs 、正方形、双相(负-正)脉冲诱发。刺激强度范围为 50 至 350 μA 。对于每只大鼠,将刺激强度设定为远低于诱发群峰电位的阈值,通常为诱发最大 fEPSP 响应所需的强度的 30-40%。用于选择刺激强度的额外标准是在条件反射脉冲后 20-50 ms 提供的第二刺激诱发了较大(> 20%)的突触场电位。

[0116] 输入/输出曲线和成对脉冲测试

渐增强度(通常从 0.02 以 0.02 mA 的梯度至 0.4 mA)的单脉冲用于输入/输出曲线。每个刺激重复 5 次。连续刺激提供之间的时间间隔为 > 20 秒,以避免前面的刺激对(pair or stimulus)的后效应。

[0117] 选择对于达到输入/输出研究的渐近值所需的总值的约 35% 的刺激强度(以 mA 计)用于成对脉冲测试。以 10、20、40、100、200 和 500 ms 的时间间隔提供成对脉冲刺激。每对刺激重复五次。连续刺激提供之间的时间间隔为 > 20 秒,以避免前面的刺激对的后效应。

[0118] 测定四只大鼠中用于输入/输出曲线和成对脉冲易化的对照值。然后向大鼠口服(p. o.) 施用溶解于明胶中的 1 g/kg 的 2FL。在施用 2FL 之后,输入/输出和成对脉冲测试重复 90 min 和 180 min。

[0119] 行为大鼠中的 LTP 诱导

为了诱发 LTP,为每只大鼠提供五个 200 Hz、100 ms 队列的脉冲,速率为 1/s。这些队列总共提供 6 次,时间间隔为一分钟。以用于诱发基线记录的相同强度施加用于诱发 LTP 的 100 μ s、正方形、双相脉冲。用每 20 秒提供的成对刺激收集基线记录 15 分钟。然后,再次记录 fEPSP 30 分钟。第二天,实施额外记录 20 分钟。

[0120] 结果

如图 2 中所示,使用渐增强度的单脉冲诱发渐增幅度的 fEPSP。具体地,在 2FL 施用后 90 和 180 分钟,在 CA3-CA1 突触处诱发的 fEPSP 的幅度显著较大。

[0121] 如图 3 中所示,成对脉冲测试表明在短 (10、20、40 ms) 时间间隔、但不是长 (>100 ms) 时间间隔对第二脉冲的显著 ($P < 0.05$) 易化 (facilitation)。尽管在 40 ms 的脉冲间时间间隔诱发的易化值在 2FL 施用前低于 2FL 施用后,但三个记录段之间没有发现显著差异。

[0122] 在海马 CA3-CA1 突触的 HFS 之后实施的两个记录段诱发显著的 LTP (参见图 4)。此外,每天施用 1 g/kg 2FL 15 天之后诱发的 LTP 呈现比对照值显著更大的 fEPSP。

[0123] 基于这些结果,似乎 2FL 的施用对输入-输出曲线具有易化作用,主要对在海马 CA3-CA1 突触处诱发的 LTP 具有易化作用。

[0124] 实施例 3

在本实施例中,分析 2FL 对斑马鱼胚胎中的乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的影响。

[0125] 当孵化 (eclosion) 发生时,斑马鱼胚胎在水中生长 96 受精后小时。然后将幼体转移到 24 孔培养皿,并在 26°C 在每升 74.73 mg 2FL 的稀释液中孵育 24 小时。阴性对照 (水) 和 AChE 的阳性对照 (100 mg 二十二碳六烯酸 / 升) 包括在测定中。

[0126] 孵育后,将幼体匀浆并离心。测定所得上清液中的 AChE 水平和总蛋白含量。一式三份进行两次独立测定。将 AChE 比活性数据参考对照,并通过 ANOVA 分析。Bonferroni 事后检验用于比较。

[0127] 如图 5 中所示,2FL 当相比于阴性对照时诱导了 AChE 水平的显著增加,并且具有与阳性对照类似的响应。

[0128] 实施例 4-8

实施例 4-8 说明用于本公开的方法中使用的即食型营养乳状液,其成分列于下表中。除非另外规定,所有分量均以每 1000 千克批次产品的千克数列出。

成分	实施例4	实施例5	实施例6	实施例7	实施例8
水	足量(Q.S.)	足量	足量	足量	足量
脱脂炼乳	86.64	86.64	86.64	86.64	86.64
乳糖	54.80	54.80	54.80	54.80	54.80
高油酸红花油	14.10	14.10	14.10	14.10	14.10
大豆油	10.6	10.6	10.6	10.6	10.6
椰子油	10.1	10.1	10.1	10.1	10.1
2-岩藻糖基乳糖(2FL)	0.0948	0.090	0.085	9.479	9.005
半乳糖(GOS)	8.63	8.63	8.63	8.63	8.63
乳清蛋白浓缩物	6.40	6.40	6.40	6.40	6.40
柠檬酸钾	478.9 g	478.9 g	478.9 g	478.9 g	478.9 g
碳酸钙	448.28 g	448.28 g	448.28 g	448.28 g	448.28 g
大豆卵磷脂	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g
稳定剂	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g
ARA油	368.01 g	368.01 g	368.01 g	368.01 g	368.01 g
核苷酸/氯化物预混物	293.26 g	293.26 g	293.26 g	293.26 g	293.26 g
氯化钾	226.45 g	226.45 g	226.45 g	226.45 g	226.45 g
抗坏血酸	445.94 g	445.94 g	445.94 g	445.94 g	445.94 g
维生素矿物质预混物	142.88 g	142.88 g	142.88 g	142.88 g	142.88 g
DHA油	137.8 g	137.8 g	137.8 g	137.8 g	137.8 g
角叉菜胶	180.0 g	180.0 g	180.0 g	180.0 g	180.0 g
氯化镁	55.0 g	55.0 g	55.0 g	55.0 g	55.0 g
硫酸亚铁	58.0 g	58.0 g	58.0 g	58.0 g	58.0 g
氯化胆碱	53.9 g	53.9 g	53.9 g	53.9 g	53.9 g
维生素 A、D ₃ 、E、K ₁ 预混物	47.4 g	47.4 g	47.4 g	47.4 g	47.4 g
柠檬酸	29.77 g	29.77 g	29.77 g	29.77 g	29.77 g
混合的类胡萝卜素预混物	26.40 g	26.40 g	26.40 g	26.40 g	26.40 g
氯化钠	AN	AN	AN	AN	AN
L-肉碱	3.31 g	3.31 g	3.31 g	3.31 g	3.31 g
磷酸三钙	15.65 g	15.65 g	15.65 g	15.65 g	15.65 g
磷酸二氢钾	13.67 g	13.67 g	13.67 g	13.67 g	13.67 g
核黄素	2.42 g	2.42 g	2.42 g	2.42 g	2.42 g
氢氧化钾	AN	AN	AN	AN	AN

AN = 根据需要

[0129] 实施例 9-13

实施例 9-13 说明用于本公开的方法中使用的即食型营养乳状液,其成分列于下表中。除非另外规定,所有分量均以每 1000 千克批次产品的千克数列出。

成分	实施例9	实施例10	实施例11	实施例12	实施例13
水	足量(Q.S.)	足量	足量	足量	足量
脱脂炼乳	86.64	86.64	86.64	86.64	86.64
乳糖	54.80	54.80	54.80	54.80	54.80
高油酸红花油	14.10	14.10	14.10	14.10	14.10
大豆油	10.6	10.6	10.6	10.6	10.6
椰子油	10.1	10.1	10.1	10.1	10.1
HMO 混合物	0.0948	0.0901	0.0853	9.479	9.0047
6-唾液酸乳糖(6SL)	0.0316	0.0300	0.0284	0	0
2-岩藻糖基乳糖(2FL)	0.0316	0.0300	0.0284	3.159	3.002
乳糖-N-新四糖(LNnT)	0.0316	0.0300	0.0284	0	0
半乳糖(GOS)	8.63	8.63	8.63	8.63	8.63
乳清蛋白浓缩物	6.40	6.40	6.40	6.40	6.40
柠檬酸钾	478.9 g	478.9 g	478.9 g	478.9 g	478.9 g
碳酸钙	448.28 g	448.28 g	448.28 g	448.28 g	448.28 g
大豆卵磷脂	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g
稳定剂	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g	355.74 g
ARA油	368.01 g	368.01 g	368.01 g	368.01 g	368.01 g
核苷酸/氯化物预混物	293.26 g	293.26 g	293.26 g	293.26 g	293.26 g
氯化钾	226.45 g	226.45 g	226.45 g	226.45 g	226.45 g
抗坏血酸	445.94 g	445.94 g	445.94 g	445.94 g	445.94 g
维生素矿物质预混物	142.88 g	142.88 g	142.88 g	142.88 g	142.88 g
DHA油	137.8 g	137.8 g	137.8 g	137.8 g	137.8 g
角叉菜胶	180.0 g	180.0 g	180.0 g	180.0 g	180.0 g
氯化镁	55.0 g	55.0 g	55.0 g	55.0 g	55.0 g
硫酸亚铁	58.0 g	58.0 g	58.0 g	58.0 g	58.0 g
氯化胆碱	53.9 g	53.9 g	53.9 g	53.9 g	53.9 g
维生素 A、D ₃ 、E、K ₁ 预混物	47.40 g	47.40 g	47.40 g	47.40 g	47.40 g
柠檬酸	29.77 g	29.77 g	29.77 g	29.77 g	29.77 g
混合的类胡萝卜素预混物	26.40 g	26.40 g	26.40 g	26.40 g	26.40 g
氯化钠	AN	AN	AN	AN	AN
L-肉碱	3.31 g	3.31 g	3.31 g	3.31 g	3.31 g
磷酸三钙	15.65 g	15.65 g	15.65 g	15.65 g	15.65 g
磷酸二氢钾	13.67 g	13.67 g	13.67 g	13.67 g	13.67 g
核黄素	2.42 g	2.42 g	2.42 g	2.42 g	2.42 g
氢氧化钾	AN	AN	AN	AN	AN

AN = 根据需要

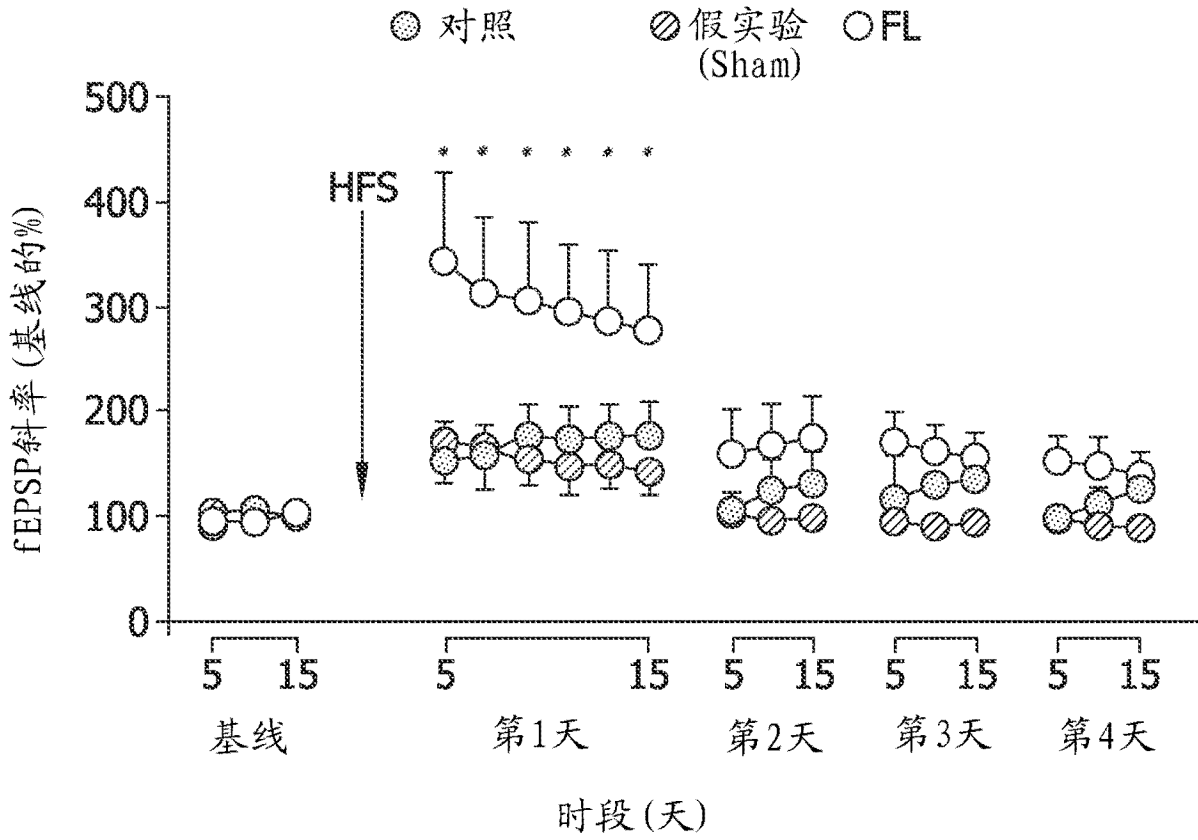


图 1

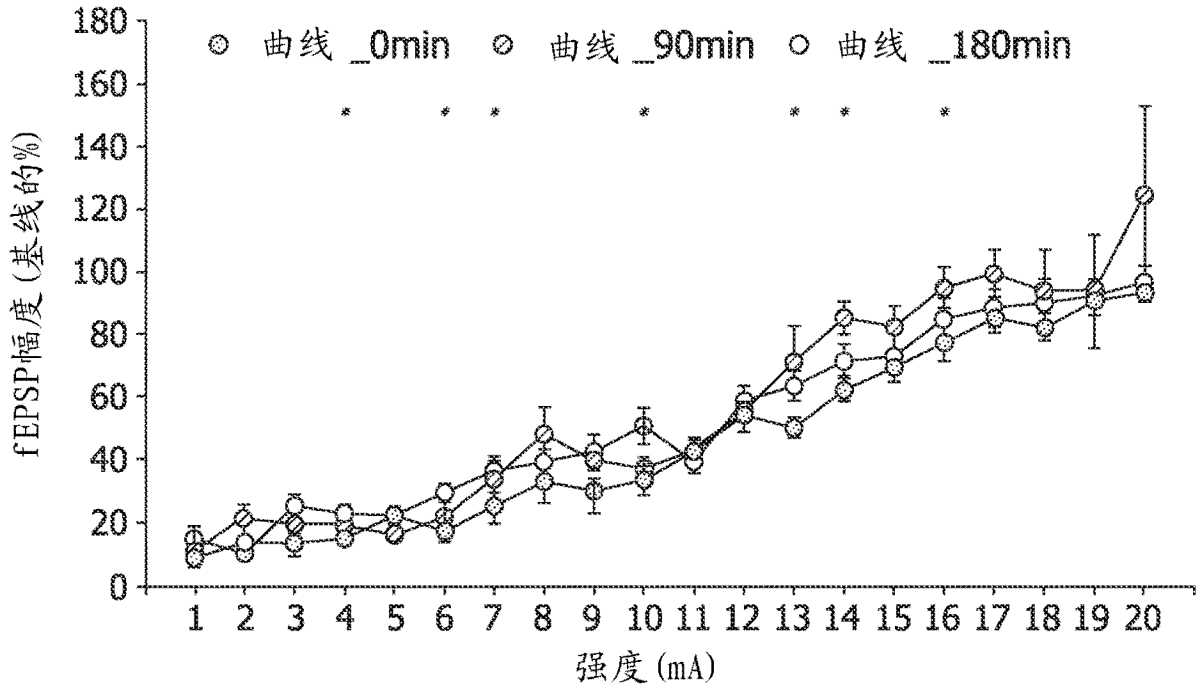


图 2

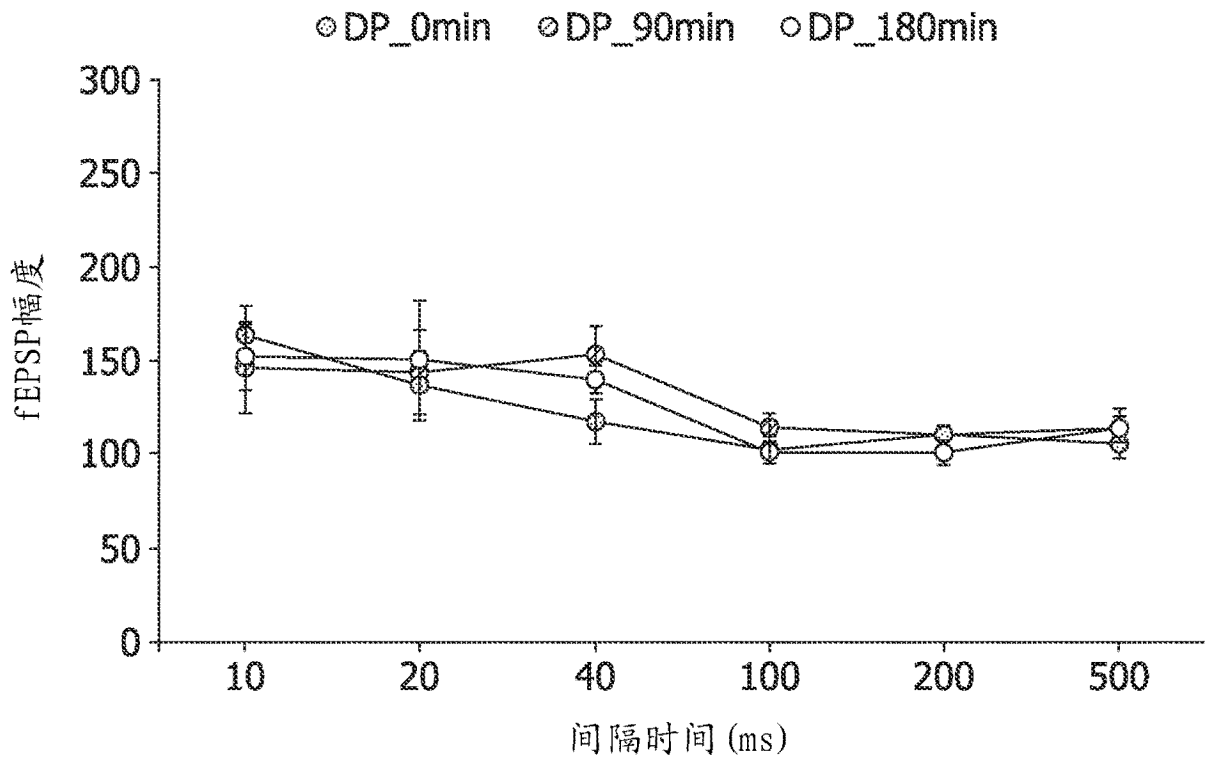


图 3

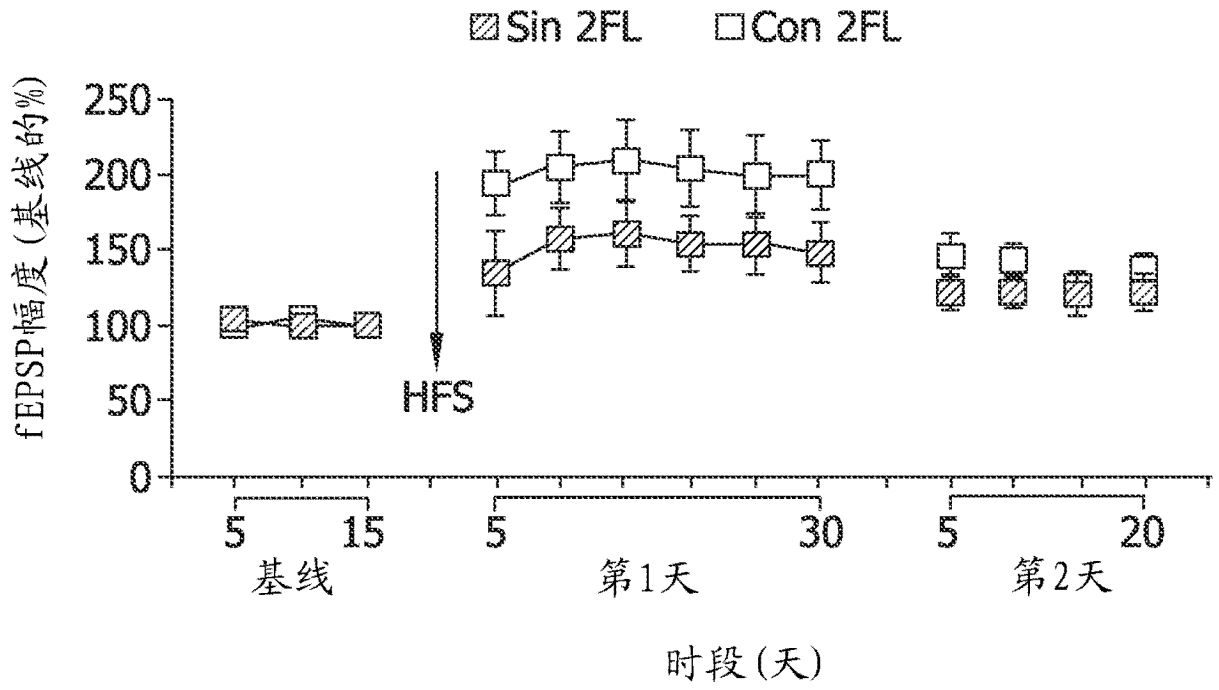


图 4

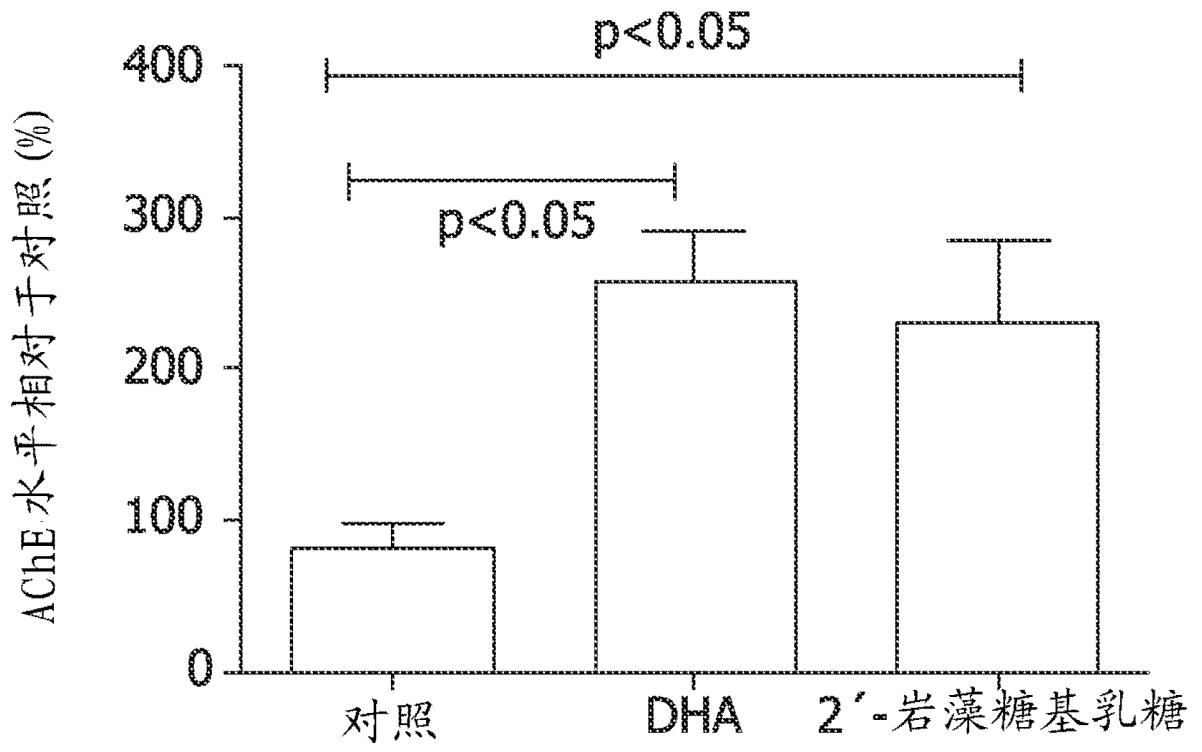


图 5