

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 950 489**

51 Int. Cl.:

A61K 31/702 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A23L 33/15 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A23L 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2016** **PCT/DK2016/050345**
87 Fecha y número de publicación internacional: **04.05.2017** **WO17071716**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2016** **E 16859112 (1)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.04.2023** **EP 3368047**

54 Título: **Composición sintética y método para modular los trastornos de la emoción y del ánimo**

30 Prioridad:

28.10.2015 DK 201570697
24.02.2016 DK 201670101

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.10.2023

73 Titular/es:

GLYCOM A/S (100.0%)
Kogle Allé 4
2970 Hørsholm, DK

72 Inventor/es:

MCCONNELL, BRUCE;
ELISON, EMMA y
VIGSNÆS, LOUISE KRISTINE

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 950 489 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición sintética y método para modular los trastornos de la emoción y del ánimo

5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere en general a composiciones y métodos para el tratamiento de trastornos emocionales y del estado de ánimo, por ejemplo ansiedad y depresión.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Los trastornos de ansiedad son un grupo de trastornos mentales caracterizados por sentimientos de ansiedad y miedo (Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales, Asociación Americana de Psiquiatría, 5ª ed., 2013). La ansiedad a menudo se presenta con otros trastornos mentales, en particular trastornos del estado de ánimo o depresivos. Las opciones de medicamentos son las benzodiazepinas, que se usan para el alivio a corto plazo de la ansiedad severa, los antidepresivos, y los bloqueadores beta, para reducir algunos de los síntomas físicos, tales como taquicardias y temblores.

Los trastornos del estado de ánimo o depresivos son un grupo de trastornos que implican alteraciones primarias del estado de ánimo. Estos incluyen depresión, trastorno depresivo mayor (MDD o depresión clínica), distimia, y trastorno bipolar. Los pacientes que sufren de depresión muestran sentimientos de tristeza, mal humor, y aversión a la actividad, y este estado de ánimo puede afectar los pensamientos, el comportamiento, los sentimientos y la sensación de bienestar de una persona. Una persona deprimida puede sentirse triste, ansiosa, vacía, desesperanzada, preocupada, indefensa, inútil, culpable, irritable, herida, o inquieta.

El trastorno depresivo mayor (MDD) es un trastorno mental grave e incapacitante que se caracteriza por episodios de bajo estado de ánimo general, baja autoestima, y pérdida de interés o placer en actividades normalmente placenteras. La enfermedad tiende a ser crónica, y los episodios repetidos son comunes. Otros síntomas del MDD pueden incluir irritabilidad o frustración, trastornos del sueño, cansancio y falta de energía, cambios en el apetito, ansiedad, agitación, inquietud, sentimientos de inutilidad o culpa, dificultad para pensar y concentrarse, y problemas físicos inexplicables, tales como dolor de espalda o cefaleas. El trastorno contribuye significativamente a la carga mundial de morbilidad, y afecta a personas de todas las comunidades del mundo (Ferrari et al. PLoS Med. 10, e1001547 (2013)). El MDD es un trastorno psiquiátrico muy prevalente con estudios de gemelos que revelan que hasta el 40% de los casos de MDD están determinados genéticamente (Kendler et al. Psychol. Med. 36, 955, (2006)).

Aunque se desconocen las causas exactas de los trastornos del estado de ánimo, se cree que pueden estar implicados una variedad de factores, tales como la química cerebral y las diferencias físicas del cerebro, las hormonas, los rasgos heredados, y los sucesos de vida. Esta falta de conocimiento de la causalidad ha dificultado el tratamiento.

Muchos tipos de medicamentos antidepresivos están disponibles para tratar los trastornos del estado de ánimo que se presentan con depresión. Algunos fármacos disponibles incluyen inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la recaptación de serotonina y norepinefrina (IRSN), inhibidores de la recaptación de norepinefrina y dopamina (NDRI), antidepresivos tricíclicos, inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO), y antidepresivos atípicos tal como la vortioxetina. Sin embargo, a pesar de la disponibilidad de numerosas opciones de tratamiento, la respuesta individual a la medicación antidepresiva es subóptima y variable. Es decir, no todos los individuos responden por igual a un determinado antidepresivo, y algunos no responden en absoluto. Tantos como la mitad de los pacientes no reciben el tratamiento adecuado, y muchos responden parcialmente o no responden al tratamiento. La presencia de síntomas residuales también se asocia con un mayor riesgo de recurrencia, más episodios depresivos crónicos, y una menor duración entre episodios. Las pautas para el tratamiento recomiendan cuatro estrategias posibles para manejar la falta de respuesta o la respuesta parcial, que incluyen: aumentar la dosis del fármaco antidepresivo; reemplazar el medicamento por un medicamento antidepresivo diferente; aumentar la terapia antidepresiva con un agente no antidepresivo; o combinar el antidepresivo inicial con un segundo antidepresivo.

A pesar de la falta de eficacia general, todos los fármacos disponibles tienen efectos secundarios, y muchos tienen efectos secundarios graves. Por lo tanto, también se ha investigado una opción más segura basada en la nutrición. Un enfoque potencial es el papel del folato en la función del sistema nervioso central, debido a que el folato es una vitamina. Las pruebas sugieren que el folato puede reducir los estados de ánimo depresivos en ciertos pacientes; al menos comparable a la de los antidepresivos tricíclicos. El folato también parece influir en la velocidad de síntesis de tetrahidrobiopterina, un cofactor en la hidroxilación de fenilalanina y triptófano, etapas que limitan la velocidad en la biosíntesis de dopamina, norepinefrina, y serotonina, neurotransmisores que se postula que desempeñan un papel en la patogenia de la depresión. Además, se ha demostrado que el metiltetrahidrofolato (MTHF) se une a los receptores de glutamato presinápticos, en los que potencialmente puede modular la liberación de otros neurotransmisores, incluyendo las monoaminas. Sin embargo, el folato parece ser más aplicable a pacientes con ciertos perfiles genéticos (documento WO 2014/164882), y probablemente no sea una solución para todos los pacientes.

Cada vez hay más pruebas que sugieren que la microbiota intestinal también desempeña un papel clave en la generación de trastornos psiquiátricos (Savignac et al. Neurogastroenterol. Motil. 26, 1615 (2014)). La microbiota intestinal consiste en una vasta comunidad bacteriana que reside principalmente en el colon y vive en una relación simbiótica con el hospedante. La microbiota gastrointestinal humana incluye al menos 1000 especies diferentes de bacterias, que en conjunto forman hasta 10^{14} células bacterianas, diez veces más que el número de células humanas, y codifican 100 veces más genes únicos que el genoma humano (Qin et al. Nature 464, 59 (2010)). Un sistema de comunicación neurohumoral bidireccional, conocido como eje intestino-cerebro, integra las actividades intestinales y cerebrales del hospedante.

Esto ha llevado a los investigadores a intentar usar probióticos como una opción de tratamiento. Aunque los datos son limitados, se ha mostrado que las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacteria* muestran propiedades terapéuticas potenciales en trastornos psiquiátricos (Dinan et al. Biol. Psychiatry 74, 720 (2013)). Además, pruebas preliminares indican que algunos prebióticos pueden ser otra opción de tratamiento. Los oligosacáridos de la leche humana 3'-O-sialil-lactosa (3'-SL) y 6'-O-sialil-lactosa (6'-SL) respaldan las respuestas conductuales normales en ratones durante la exposición a factores estresantes, posiblemente a través de efectos en el eje microbiota intestinal-cerebro (Tarr et al. Brain Behav. Immun. 50, 166 (2015)).

El documento WO 2014/100126 describe una composición nutricional para uso en un método para reducir el estrés en un individuo que lo necesita, que comprende al menos un oligosacárido de la leche humana seleccionado de 6'-sialil-lactosa, lacto-N-neotetraosa, lacto-N-tetraosa, lacto-N-tetraosa disialilada, 3-fucosilactosa y 3'-sialilactosa.

El documento WO 2015/157098 describe una composición nutricional para uso en la mejora de la respuesta inmunitaria innata de la mucosa de un individuo frente a patógenos, en el que la composición nutricional comprende 2'-fucosil-lactosa, lacto-N-neotetraosa, o una combinación de las mismas.

El documento US 2015/0238508 describe que los oligosacáridos de la leche humana, en particular la 2'-fucosil-lactosa, reducen la respuesta al estrés exacerbado en los individuos, particularmente en los individuos que se vieron afectados por estrés psicológico agudo en una etapa temprana de la vida.

El documento US 2015/0265661 describe que ciertas combinaciones de sialilactosa y/o oligosacáridos fucosilados exhiben efectos prebióticos elevados.

Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad de una forma generalmente segura y eficaz para tratar los trastornos emocionales y del estado de ánimo, tales como la ansiedad y la depresión.

SUMARIO DE LA INVENCION

En un aspecto, esta invención se refiere a uno o más oligosacáridos neutros de la leche humana ("HMO neutros") para uso en el tratamiento o la mejora de un trastorno emocional y/o del estado de ánimo, en el que el trastorno emocional y/o del estado de ánimo es ansiedad y/o depresión, en un paciente no lactante que tiene uno o más de sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis, y una barrera mucosal alterada.

En otro aspecto, esta invención proporciona una composición sintética para uso en el tratamiento o la mejora de un trastorno emocional y/o del estado de ánimo, en el que el trastorno emocional y/o del estado de ánimo es ansiedad y/o depresión, en un paciente no lactante que tiene uno o más de sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis, y una barrera mucosal alterada, caracterizado por que la composición contiene una cantidad eficaz de uno o más HMO neutros. La composición sintética es preferiblemente una composición nutricional. La composición sintética se puede usar como tratamiento complementario para un paciente que recibe otra medicación.

En otro aspecto, esta invención proporciona una mezcla de un oligosacárido neutro de la leche humana, fucosilado y no fucosilado, o una composición sintética que comprende una mezcla de un oligosacárido neutro de la leche humana fucosilado y no fucosilado, para uso en el tratamiento o mejora de un trastorno emocional y/o del estado de ánimo en un paciente, particularmente un paciente no lactante que tiene uno o más de sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis, y una barrera mucosal alterada, en el que el trastorno emocional y/o del estado de ánimo es ansiedad y/o depresión.

Al paciente se le puede administrar una cantidad mayor, preferiblemente 5 g a 10 g por día, de uno o más HMO neutros durante un período de tratamiento inicial, seguido de una cantidad menor, preferiblemente 1 g a 5 g por día, para un período de mantenimiento. El período de tratamiento inicial puede ser 1 a 12 semanas. El período de mantenimiento es al menos 6 meses.

En todos los aspectos, el HMO neutro se selecciona preferiblemente de 2'-FL, 3-FL, DFL, LNT, LNnT y LNFP-I. Más preferiblemente, el HMO neutro es una combinación de uno o más HMO centrales y uno o más fucosil HMO, por ejemplo, 2'-FL y/o DFL y LNnT y/o LNT. La 2'-FL y/o DFL y LNnT y/o LNT pueden estar presentes en una relación másica de alrededor de 4:1 a 1:1; más preferiblemente alrededor de 3:1 a 1:1.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Según esta invención, se ha encontrado sorprendentemente que los oligosacáridos neutros de la leche humana (HMO neutros), ventajosamente 2'-FL, 3-FL, LNT, LNnT, LNFP-I y DFL, son capaces de tratar trastornos emocionales y/o del estado de ánimo, por ejemplo ansiedad y depresión, particularmente en pacientes que sufren estrés, sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis, o una barrera mucosal alterada. Se cree que los HMO neutros pueden: (1) actuar como prebióticos para promover el crecimiento de bacterias beneficiosas, especialmente bifidobacterias, y reducir el sobrecrecimiento bacteriano y la disbiosis; (2) actuar como señuelo para los patógenos, al unirse a ellos y reducir/prevenir así la unión de los patógenos a las células epiteliales en el tubo digestivo; (3) actuar para reducir la inflamación mucosal crónica; y/o (4) reparar el daño a la barrera mucosal. Al reducir la inflamación crónica de la mucosa, incluyendo la reducción de la desgranulación de los mastocitos, y/o la reparación del daño a la barrera de la mucosa, los HMO neutros también pueden tener efectos beneficiosos sobre el sistema nervioso entérico de los pacientes; reduciendo potencialmente la ansiedad y el estrés. Además, las bifidobacterias, incluyendo *Bifidobacterium adolescentis*, son capaces de sintetizar folato *de novo*, asegurando su constante biodisponibilidad, y puede segregar neuromoduladores tal como el ácido gamma-aminobutírico (GABA), un potente neurotransmisor inhibidor implicado en la reducción del estrés, la ansiedad y la depresión.

Las bacterias intestinales pueden comunicarse directamente con el sistema nervioso central a través de las fibras nerviosas sensoriales vagales y el sistema inmunitario periférico. Al alterar la microbiota para aumentar la abundancia de bifidobacterias, entre otros impactos, los HMO neutros pueden influir en la neurotransmisión en el hipotálamo paraventricular, el núcleo central de la amígdala, y el núcleo del lecho de la estría terminal. Las tres regiones están implicadas en el procesamiento de las emociones relacionadas con la ansiedad y el estado de ánimo.

Los HMO neutros para tratar trastornos emocionales y/o del estado de ánimo como se describe anteriormente pueden ser preferiblemente uno o más HMO fucosilados, o uno o más HMO no fucosilados. En una realización, el HMO neutro es una mezcla de HMO neutros, incluso preferiblemente una mezcla que comprende o consiste en un HMO neutro fucosilado y no fucosilado. En particular, la mezcla contiene o consiste en un HMO neutro fucosilado seleccionado de la lista que consiste en 2'-FL, 3-FL, DFL y LNFP-I, y un HMO neutro no fucosilado seleccionado de la lista que consiste en LNT y LNnT. En una realización preferida, la mezcla comprende o consiste en 2'-FL y LNnT.

Las realizaciones de la invención se describen usando términos generales y definiciones de los siguientes párrafos. Aún así, en algunos casos, un término puede definirse en el contexto de una realización particular.

Según la invención, el término "paciente" designa a un individuo humano no lactante diagnosticado con IBS. La expresión "no lactante" significa una persona de cualquier edad por encima de 3 años, por ejemplo puede ser un niño, un adolescente, un adulto, o un anciano.

Según esta invención, la expresión "administración oral" significa preferiblemente cualquier forma convencional para la administración oral de una composición a un paciente que provoque el depósito de la composición en el tubo digestivo (incluyendo el estómago) del paciente. En consecuencia, la administración oral incluye la deglución de la composición por parte del paciente, la alimentación entérica a través de una sonda nasogástrica, y similares.

También aquí, la expresión "cantidad eficaz" significa preferiblemente una cantidad de una composición que proporciona un oligosacárido de la leche humana neutro en una cantidad suficiente para producir un resultado de tratamiento deseado en un paciente. Una cantidad eficaz se puede administrar en una o más dosis al paciente para lograr el resultado de tratamiento deseado.

También aquí, la expresión "trastorno del estado de ánimo" significa preferiblemente un trastorno mental que implica una alteración primaria del estado de ánimo que da como resultado que el estado de ánimo se distorsione o sea inconsistente con las circunstancias. Los trastornos del estado de ánimo incluyen depresión, trastorno depresivo mayor, distimia, y trastorno bipolar.

También aquí, la expresión "trastorno emocional" significa un trastorno mental que implica una perturbación primaria de las emociones que da como resultado que las emociones se distorsionen o sean inconsistentes con las circunstancias. Los trastornos emocionales incluyen ansiedad excesiva, miedo, ira, felicidad, etc.

También aquí, la expresión "oligosacárido de la leche humana neutro" o "HMO neutro" significa preferiblemente un hidrato de carbono complejo que se encuentra en la leche materna humana que está en forma neutra (no en forma ácida). Se sabe que existen más de 200 estructuras de HMO diferentes en la leche materna humana (Urashima et al. Milk Oligosaccharides, Nova Biomedical Books, Nueva York, 2011; Chen Adv. Carbohydr. Chem. Biochem. 72, 113 (2015)). Los HMO neutros pueden ser oligosacáridos centrales y fucosilados. Los HMO centrales son HMO neutros no fucosilados, y consisten en Glc, Gal y GlcNAc, y carecen de fucosa y ácido siálico. Los ejemplos de los HMO centrales incluyen lacto-N-tetraosa (LNT), lacto-N-neotetraosa (LNnT), lacto-N-neohexaosa (LNnH), lacto-N-hexaosa (LNH) y para-lacto-N-neohexaosa (pLNnH). Los HMO fucosilados son lactosas fucosiladas o HMO centrales fucosilados tales como 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), lacto-N-fucopentaosa I (LNFP-I), lacto-N-difucohexaosa I (LNDFH-I), 3-fucosil-lactosa (3-FL), difucosil-lactosa (DFL), lacto-N-fucopentaosa III (LNFP-III), fucosil-para-lacto-N-neohexaosa (F-pLNnH), lacto-N-difucohexaosa I (LNDFH-I), fucosil-lacto-N-hexaosa II (FLNH-II), lacto-N-fucopentaosa V (LNFP-

V), lacto-N-difucohexaosa II (LNDFH-II), fucosil-lacto-N-hexaosa I (FLNH-I), fucosil-lacto-N-hexaosa III (FLNH-III), y fucosil-para-lacto-N-neohexaosa (F-pLNnH).

También aquí, los términos "microbiota", "microflora" y "microbioma" significan preferiblemente una comunidad de microorganismos vivos que habita típicamente en un órgano u órganos o parte o partes corporales de un ser humano, particularmente de un adulto. Los miembros más dominantes de la microbiota gastrointestinal incluyen microorganismos de los filos de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Synergistetes*, *Verrucomicrobia*, *Fusobacteria*, y *Euryarchaeota*. A nivel de género, los microorganismos dominantes son *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Alistipes*, *Collinsella*, *Blautia*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Eubacterium* y *Dorea*; y a nivel de especie, las especies comunes son *Bacteroides uniformis*, *Alistipes putredinis*, *Parabacteroides merdae*, *Ruminococcus bromii*, *Dorea longicatena*, *Bacteroides caccae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Eubacterium hallii*, *Ruminococcus torques*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Ruminococcus lactaris*, *Collinsella aerofaciens*, *Dorea formicigenerans*, *Bacteroides vulgatus* y *Roseburia intestinalis*. En algunos casos, la microbiota gastrointestinal incluye la microbiota asociada a la mucosa, que se encuentra en o está unida a la capa de moco que cubre el epitelio del tubo digestivo, y la microbiota asociada a la luz, que se encuentra en la luz del tubo digestivo.

También aquí, la expresión "*Bifidobacterium* del grupo filogenético *B. adolescentis*" significa una bacteria seleccionada de un grupo que consiste en *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Bifidobacterium kashiwanohense*, *Bifidobacterium dentum* y *Bifidobacterium stercoris* (Duranti et al. Appl. Environ. Microbiol. 79, 336 (2013), Bottacini et al. Microbial Cell Fact. 13:S4 (2014)).

Los HMO neutros pueden aislarse o enriquecerse mediante procedimientos bien conocidos a partir de la leche o leches segregadas por mamíferos, incluyendo, pero sin limitarse a, especies humanas, bovinas, ovinas, porcinas, o caprinas. Los HMO neutros también se pueden producir mediante procedimientos bien conocidos que usan fermentación microbiana, procedimientos enzimáticos, síntesis química, o combinaciones de estas tecnologías. Como ejemplos, usando química, LNnT se puede obtener como se describe en los documentos WO 2011/100980 y WO 2013/044928, LNT se puede sintetizar como se describe en los documentos WO 2012/155916 y WO 2013/044928, una mezcla de LNT y LNnT se puede obtener como se describe en el documento WO 2013/091660, 2'-FL se puede obtener como se describe en los documentos WO 2010/115934 y WO 2010/115935, 3-FL se puede obtener como se describe en el documento WO 2013/139344, y mezclas de oligosacáridos de la leche humana se pueden obtener como se describe en el documento WO 2012/113405. Como ejemplos de producción enzimática, los oligosacáridos fucosilados se pueden obtener como se describe en el documento WO 2012/127410, y ventajosamente, mezclas diversificadas de oligosacáridos de la leche humana se pueden obtener como se describe en los documentos WO 2012/156897 y WO 2012/156898. Con respecto a los métodos biotecnológicos, el documento WO 01/04341 describe cómo obtener oligosacáridos centrales de la leche humana sustituidos opcionalmente con fucosa usando *E. coli* genéticamente modificada. Si se desea incluir adicionalmente HMO ácidos, estos se pueden obtener como se describe en los documentos WO 2012/113404, WO 2012/007588, WO 01/04341 y WO 2007/101862.

La composición sintética que comprende uno o más oligosacáridos neutros de la leche humana puede adoptar cualquier forma adecuada. La expresión "composición sintética" designa una composición que se prepara artificialmente, y preferiblemente significa una composición que contiene al menos un compuesto que se produce *ex vivo* química y/o biológicamente, por ejemplo mediante reacción química, reacción enzimática, o de forma recombinante. En algunas realizaciones, una composición sintética de la invención puede ser, pero preferiblemente no lo es, idéntica a una composición de origen natural. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de una composición nutricional que contiene otros macronutrientes tales como proteínas, lípidos u otros hidratos de carbono. La composición sintética también puede ser una composición nutricional incompleta en forma de dosificación unitaria o composición farmacéutica. En una realización, las composiciones sintéticas contienen uno o más HMO centrales y uno o más fucosil HMO. En una realización preferida, la composición sintética contiene 2'-FL y/o DFL, y LNnT y/o LNT.

Composiciones nutricionales

Una composición nutricional puede contener fuentes de proteína, lípidos y/o hidratos de carbono digeribles, y puede estar en forma líquida o en polvo. La composición se puede diseñar para que sea la única fuente de nutrición o un suplemento nutricional. Para los pacientes con trastornos emocionales o del estado de ánimo, se prefiere un suplemento nutricional; especialmente un suplemento que puede constituir un sustituto de una comida o un tentempié. Preferiblemente, la composición nutricional es pobre en lactosa o, mejor aún, sin lactosa.

Las fuentes de proteína adecuadas incluyen proteínas de leche, proteína de soja, proteína de arroz, proteína de guisante y proteína de avena, o mezclas de las mismas. Las proteínas de leche pueden estar en forma de concentrados de proteína de leche, proteína de suero, o caseína, o mezclas de ambos. Las proteínas de soja, arroz, guisantes y avena pueden estar en forma de proteínas aisladas. La proteína puede ser proteína entera o proteína hidrolizada, ya sea parcialmente hidrolizada o extensamente hidrolizada. La proteína puede proporcionar alrededor de 5% a alrededor de 50%, preferiblemente alrededor de 10% a alrededor de 30%, de la energía de la composición nutricional. La fuente de proteína preferiblemente no es una fuente de hidratos de carbono tal como lactosa. Por lo tanto, si se usa una proteína de la leche como fuente de proteína, la proteína de la leche es preferiblemente pobre en lactosa o sin lactosa.

Los hidratos de carbono digeribles adecuados incluyen maltodextrina, almidón hidrolizado o modificado o almidón de maíz, polímeros de glucosa, jarabe de maíz, sólidos de jarabe de maíz, tapioca, sacarosa, y glucosa, o mezclas de los mismos. Generalmente, los hidratos de carbono digeribles proporcionan alrededor de 35% a alrededor de 75%, preferiblemente alrededor de 45% a alrededor de 70%, de la energía de la composición nutricional. Preferiblemente, el hidrato de carbono digerible está libre de lactosa.

Los lípidos adecuados incluyen aceite de colza, aceite de semilla de girasol, aceite de palma, aceite de soja, grasa de leche, aceite de maíz, y lecitina de soja. Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA), especialmente los ácidos grasos omega-3 tal como el ácido docosahexaenoico (DHA), pueden incluirse en la fuente de lípidos debido a que tienen propiedades antiinflamatorias. Fuentes adecuadas de LC-PUFA son aceites vegetales, aceites de plancton marino, aceites fúngicos, y aceites de pescado. La fuente de lípidos también puede incluir triglicéridos de cadena media (MCT). Los aceites de coco fraccionados son una fuente adecuada de triglicéridos de cadena media. La fuente de lípidos proporciona preferiblemente alrededor de 5% a alrededor de 25% de la energía de la composición nutricional; por ejemplo alrededor de 10% a 20%.

La composición nutricional también incluye preferiblemente vitaminas y minerales. Si se pretende que la composición nutricional sea una fuente única de nutrición, preferiblemente incluye un perfil completo de vitaminas y minerales. Los ejemplos de vitaminas incluyen vitaminas A, complejo B (tal como B1, B2, B6 y B12), C, D, E y K, niacina, y vitaminas ácidas tales como ácido pantoténico y ácido fólico y biotina. Los ejemplos de minerales incluyen calcio, hierro, zinc, magnesio, yodo, cobre, fósforo, manganeso, potasio, cromo, molibdeno, selenio, níquel, estaño, silicio, vanadio y boro.

La composición nutricional también puede incluir un carotenoide tal como luteína, licopeno, zeaxantina, y betacaroteno. La cantidad total de carotenoide incluida puede variar de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml. La luteína se puede incluir en una cantidad de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml, preferiblemente de alrededor de 0,044 µg/ml a alrededor de 5 g/ml de luteína. El licopeno se puede incluir en una cantidad de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 µg/ml, preferiblemente de alrededor de 0,0185 mg/ml a alrededor de 5 g/ml de licopeno. El betacaroteno puede comprender de alrededor de 0,001 µg/ml a alrededor de 10 mg/ml, por ejemplo alrededor de 0,034 µg/ml a alrededor de 5 µg/ml de betacaroteno.

La composición nutricional también puede contener otros diversos ingredientes convencionales, tales como conservantes, agentes emulsionantes, agentes espesantes, amortiguadores, fibras y probióticos, especialmente probióticos que pueden ayudar a reducir los síntomas en los pacientes (por ejemplo *Lactobacillus casei* cepa Shirota, *B. infantis* 35624, *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12, *B. lactis* Bi-07, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* Lc705, *L. plantarum* DSM 9843, *L. plantarum* CECT7484, *L. plantarum* CECT7485, *L. acidophilus* NCFM, *L. fermentum* CECT5716, *B. breve* Bb99, *Propionibacterium freundenreichii* ssp. *Shermanii* JS, *P. acidilactici* CECT7483, *Streptococcus faecium*), compuestos antioxidantes/antiinflamatorios que incluyen tocoferoles, carotenoides, ascorbato/vitamina C, palmitato de ascorbilo, polifenoles, glutatona, y superóxido dismutasa (melón), otros factores bioactivos (por ejemplo, hormonas de crecimiento, citocinas, TFG-β), colorantes, sabores, y estabilizadores, lubricantes, etc.

La composición nutricional puede estar en forma de un polvo soluble, un concentrado líquido, o una formulación lista para uso. También pueden estar presentes diversos sabores, fibras y otros aditivos.

La composición nutricional se puede preparar mediante cualquier técnica de fabricación comúnmente usada para preparar composiciones nutricionales en forma sólida o líquida. Por ejemplo, la composición se puede preparar a partir de diversas disoluciones de alimentación. Una disolución alimenticia de proteína en grasa se puede preparar calentando y mezclando la fuente de lípidos, y añadiendo después un emulsionante (por ejemplo, lecitina), vitaminas liposolubles, y al menos una porción de la fuente de proteína mientras se calienta y se agita. Una disolución de alimentación de hidratos de carbono también se prepara añadiendo minerales, oligominerales y ultra-oligominerales, espesantes o agentes de suspensión al agua mientras se calienta y se agita. La disolución resultante se mantiene durante 10 minutos con calor y agitación continuos antes de añadir los hidratos de carbono (por ejemplo, los HMO neutros y las fuentes de hidratos de carbono digeribles). Las disoluciones de alimentación resultantes entonces se mezclan juntas mientras se calientan y agitan, y el pH se ajusta a 6.6-7.0, después de lo cual la composición se somete a un procesamiento de tiempo corto a alta temperatura durante el cual la composición se trata térmicamente, se emulsiona y homogeneiza, y después se deja enfriar. Se añaden vitaminas solubles en agua y ácido ascórbico, el pH se ajusta al intervalo deseado si es necesario, se añaden sabores, y se añade agua para lograr el nivel de sólidos totales deseado.

Para un producto líquido, la disolución resultante puede envasarse asépticamente para formar una composición nutricional envasada asépticamente. De esta forma, la composición nutricional puede estar en forma líquida concentrada o lista para el consumo. Alternativamente, la composición puede secarse por pulverización y procesarse y envasarse como un polvo reconstituible.

Cuando el producto nutricional es un líquido nutricional listo para el consumo, la concentración total del uno o más HMO neutros en el líquido, en peso del líquido, es de alrededor de 0,002% a alrededor de 3,0%, incluyendo de alrededor de 0,005% a alrededor de 2%, incluyendo de alrededor de 0,05% a alrededor de 1,0%. Cuando el producto

nutricional es un líquido nutricional concentrado, la concentración total de los HMO en el líquido, en peso del líquido, es alrededor de 0,004% a alrededor de 6,0%, incluyendo de alrededor de 0,01% a alrededor de 4,0%, incluyendo de alrededor de 0,1% a alrededor de 2,0%.

5 **Formas de dosificación unitaria**

La composición sintética de esta invención también puede estar en una forma de dosificación unitaria, tal como una cápsula, comprimido, o bolsita. Por ejemplo, la composición se puede formular en bolsitas de un solo servicio que contienen los HMO neutros, especialmente si se van a administrar dosis más altas (más de 3 g). Alternativamente, la composición puede estar en forma de comprimido que comprende los oligosacáridos de la leche humana y uno o más componentes adicionales para ayudar a la formulación y administración, tales como diluyentes, excipientes, antioxidantes, lubricantes, colorantes, aglutinantes, disgregantes, y similares.

Los diluyentes, excipientes, lubricantes, colorantes, aglutinantes y disgregantes adecuados incluyen polietileno, policloruro de vinilo, etilcelulosa, polímeros de acrilato y sus copolímeros, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), carboximetilcelulosa de sodio, polimetacrilato de hidroxietilo (PHEMA), alcohol polivinílico (PVA), polivinilpirrolidona (PVP), óxido de polietileno (PEO), o poliacrilamida (PA), carragenano, alginato de sodio, policarbófilo, ácido poliacrílico, tragacanto, metilcelulosa, pectina, gomas naturales, goma xantana, goma guar, goma karaya, hipromelosa, estearato de magnesio, celulosa microcristalina, y dióxido de silicio coloidal. Los antioxidantes adecuados son vitamina A, carotenoides, vitamina C, vitamina E, selenio, flavonoides, polifenoles, licopeno, luteína, lignano, coenzima Q₁₀ ("CoQ10") y glutatona.

Las formas de dosificación unitaria, especialmente aquellas en forma de bolsita, también pueden incluir diversos nutrientes, incluyendo macronutrientes.

25 **Dosificación de administración**

Para mejorar los trastornos emocionales y del estado de ánimo en un paciente, especialmente aquellos que sufren de estrés, sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis, y/o una barrera mucosal alterada, la cantidad de HMO neutros requerida para administrar al paciente variará dependiendo de factores tales como el riesgo y la gravedad de la enfermedad, la edad del paciente, la forma de la composición, y otros medicamentos que se administran al paciente. Sin embargo, un médico puede determinar fácilmente la cantidad requerida, y generalmente estaría en el intervalo de alrededor de 20 mg a alrededor de 30 g por día, preferiblemente alrededor de 50 mg a alrededor de 20 g por día, o de alrededor de 100 mg a alrededor de 15 g por día, en ciertas realizaciones de alrededor de 500 mg a alrededor de 10 g por día, preferiblemente de alrededor de 1 g a alrededor de 7,5 g por día. Durante una fase de tratamiento inicial, la dosificación puede ser mayor, por ejemplo 100 mg a 30 g por día, preferiblemente 500 mg a 15 g por día, más preferiblemente 1 g a 10 g por día, en ciertas realizaciones 2,5 g a 7,5 g por día. Durante una fase de prevención secundaria, la dosificación se puede reducir, por ejemplo hasta 20 mg a 20 g por día, preferiblemente 100 mg a 10 g por día, más preferiblemente 500 g a 7,5 g por día, en ciertas realizaciones 750 mg a 5 g por día.

40 **EJEMPLOS**

Ahora se describen ejemplos para ilustrar adicionalmente la invención:

45 **Ejemplo 1 - Ensayo humano**

Un total de 40 pacientes masculinos y femeninos se reclutan para participar en el estudio. Los pacientes se seleccionan de un grupo de pacientes diagnosticados con depresión y ansiedad. Los pacientes se seleccionan después de una visita de selección y un período de adaptación de 1-2 semanas. Los pacientes se distribuyen al azar en dos grupos, cada uno de 20 pacientes, con un grupo que consume el producto de tratamiento y un grupo que consume el producto de placebo durante 8 semanas. El producto de tratamiento contiene 5 gramos de una combinación de 2'-FL y LNnT, mientras que el producto de control contiene 5 gramos de glucosa. Ambos productos se presentan en forma de polvo en un envase de dosificación unitaria.

Los pacientes son elegibles para participar si tienen 18-65 años, cumplen con los criterios de diagnóstico formales para la depresión y la ansiedad, y son aptos para completar un ensayo de dos meses. Todos los pacientes reclutados son capaces y están dispuestos a comprender y cumplir con los procedimientos del estudio. Los pacientes se excluyen si: han participado en un estudio clínico un mes antes de la visita de selección; tienen resultados anormales en los ensayos de detección que son clínicamente relevantes para la participación en el estudio; padecen una enfermedad grave como neoplasia, diabetes, cardiopatía grave, nefropatía, enfermedad neurológica, o enfermedad psiquiátrica grave, o cualquier afección que pueda confundir los resultados del estudio; usó suplementos de probióticos en dosis altas (se permite el yogur) durante los 3 meses anteriores al estudio; consumió antibióticos 3 meses antes del estudio; consumió regularmente cualquier medicamento que pudiera interferir con la evaluación de los síntomas 2 semanas antes del estudio; y embarazadas o lactantes.

En la visita inicial (selección), cada paciente recibe información oral y escrita sobre el estudio, y se le pide que firme una autorización escrita. Los pacientes son evaluados mediante una revisión completa de la historia clínica. Se recolecta una muestra de sangre para el análisis de elegibilidad. Se realiza una charla mediante los cuestionarios electrónicos (GSRS, QoL, BDI, BAI y BSFS) para familiarizar a los pacientes con el sistema electrónico, y se distribuye a cada paciente el equipo para la toma de muestras de heces. Se indica a los pacientes que mantengan sus muestras en el congelador hasta la próxima visita.

En la segunda visita (comienzo de la intervención), se verifican los criterios de elegibilidad, y los sujetos elegibles se asignan al azar a los dos brazos en el ensayo. Se evalúan los síntomas (medidos por las escalas GSRS, QoL, BDI, BAI y BSFS). El suplemento de ensayo se distribuye junto con instrucciones sobre el uso de un diario de cumplimiento electrónico. Se recolectan las muestras fecales, y se distribuyen equipos para recolectar nuevas muestras. Se recuerda a los pacientes que no cambien su dieta habitual durante el estudio.

Se recolectan muestras de sangre para estudios de biomarcadores y biobancos. El suero de las muestras de sangre se transfiere a criotubos y se almacena a -80°C. Se miden los siguientes biomarcadores TNF- α , IL-1 β , IL-8, IL-6, IL-12, IL-10, MIP-1 β , hs-CRP, proteína de unión a lipopolisacáridos, triptasa, antiflagelina, zonulina, histamina, prostaglandina 2, y cortisol. Las muestras fecales se almacenan a -80°C hasta su análisis. El análisis microbiológico se realiza en las muestras fecales usando la secuencia del gen de ARNr 16 S.

El estudio tiene una duración de 8 semanas, y los pacientes consumen diariamente un placebo o un producto de tratamiento. Se indica a los pacientes que consuman los productos por la mañana, con el desayuno. El cumplimiento se monitoriza a través del sistema interactivo habilitado para Internet. Los pacientes también usan el sistema para registrar:

- Información de la escala de forma de heces de Bristol (BSFS),
- Información de la escala de calificación de síntomas gastrointestinales (GSRS). Este cuestionario incluye 15 apartados que cubren cinco dimensiones (dolor abdominal, indigestión, reflujo, diarrea, estreñimiento), y usa una escala de Likert de siete grados,
- Información de la calidad de vida (QoL),
- Información del Inventario de Depresión de Beck (BDI) y del Inventario de Ansiedad de Beck (BAI).

4 semanas después del inicio, hay un control intermedio. Se realiza un examen físico, y se vuelven a evaluar los síntomas (medidos por las escalas GSRS, BSFS, QoL, BDI y BAI, etc.). Las muestras fecales y muestras de sangre se recolectan y analizan como antes, y se distribuye equipo para la recogida de nuevas muestras fecales.

Al final de la intervención (8 semanas), cada paciente tiene una visita con el equipo médico. Se realiza un examen físico, y se vuelven a evaluar los síntomas (medidos por las escalas GSRS, BSFS, QoL, BDI y BAI, etc.). Los productos de suplementación de ensayo se recopilan para verificar el cumplimiento.

Las muestras fecales y de sangre se recogen y analizan como antes.

Cualquier paciente que indique cualquier evento adverso durante el estudio está invitado a una visita final para preguntar sobre cualquier evento adverso. Esta visita se puede completar por teléfono.

Los pacientes del tratamiento informan una reducción de la ansiedad, una reducción de la depresión, y una mejora del estrés. El análisis de biomarcadores sanguíneos indica que los pacientes tratados tienen niveles reducidos de marcadores inflamatorios, permeabilidad intestinal reducida que indica una barrera mucosal mejorada, y menores signos de desgranulación de mastocitos. El análisis fecal indica que los pacientes tratados tienen niveles reducidos de sobrecrecimiento bacteriano/disbiosis y un nivel más alto de bifidobacterias, especialmente una *Bifidobacterium* del grupo filogenético de *B. adolescentis*, preferiblemente *Bifidobacterium adolescentis* y/o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*.

Ejemplo 2 - Composiciones nutricionales

Las composiciones nutricionales listas para consumir se preparan a partir de agua, maltodextrina, jarabe de maíz, azúcar, concentrado de proteína de leche, aceite vegetal (cánola, maíz y girasol rico en oleico), aislado de proteína de soya, goma arábiga, sabores, uno o más HMO neutros, citrato de potasio, fosfato de magnesio, gel y goma de celulosa, carbonato de calcio, ascorbato de sodio, lecitina de soja, bitartrato de colina, fosfato de calcio, acetato de alfa-tocoferilo, ácido ascórbico, goma de carragenano, pirofosfato férrico, sabores, edulcorantes (Stevia), palmitato de vitamina A, niacinamida, vitamina D3, pantotenato de calcio, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, hidrocloreuro de piridoxina, hidrocloreuro de tiamina, betacaroteno, riboflavina, cloruro de cromo, ácido fólico, biotina, yoduro de potasio, fitonadiona, selenito de sodio, molibdato de sodio, vitamina B12.

Cada una de las composiciones proporciona un suplemento nutricional que es una buena fuente de proteínas, bajo en grasas, vitaminas, minerales y antioxidantes. Además, las composiciones contienen HMO neutros que son capaces de promover el crecimiento de bacterias intestinales beneficiosas, modular la inflamación crónica, mejorar la integridad de la barrera mucosal, y reducir la ansiedad y la depresión.

5

Ejemplo 3 - Composiciones de cápsulas

Cada cápsula se prepara llenando alrededor de 1 g de uno o más HMO neutros en una cápsula de gelatina 000 usando una máquina de llenado. Después, las cápsulas se cierran. Los HMO neutros están en forma de polvo que fluye libremente.

10

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un oligosacárido neutro de la leche humana o una composición sintética que comprende una cantidad eficaz de un oligosacárido neutro de la leche humana, para uso en el tratamiento o la mejora de un trastorno emocional y/o del estado de ánimo en un paciente no lactante que tiene uno o más de sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis y barrera mucosal alterada, en el que el trastorno emocional y/o del estado de ánimo es ansiedad y/o depresión.
- 10 2. Una mezcla de un oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado y no fucosilado o una composición sintética que comprende una mezcla de un oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado y no fucosilado, para uso en el tratamiento o la mejora de un trastorno emocional y/o del estado de ánimo en un paciente, particularmente un paciente no lactante que tiene uno o más de sobrecrecimiento bacteriano, disbiosis y barrera mucosal alterada, en el que el trastorno emocional y/o del estado de ánimo es ansiedad y/o depresión.
- 15 3. El oligosacárido de la leche humana neutro o la composición sintética para uso según la reivindicación 1, en el que el oligosacárido de la leche humana neutro es un oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado, un oligosacárido de la leche humana neutro no fucosilado, o una mezcla de un oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado y no fucosilado.
- 20 4. El oligosacárido de la leche humana neutro o la composición sintética para uso según la reivindicación 1, en el que el oligosacárido de la leche humana neutro se selecciona de 2'-fucosil-lactosa (2'-FL), 3-fucosil-lactosa (3-FL), difucosil-lactosa (DFL), lacto-N-tetraosa (LNT), lacto-N-neotetraosa (LNnT) y lacto-N-fucopentaosa I (LNFP-I).
- 25 5. El oligosacárido de la leche humana neutro, la mezcla o la composición sintética para uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado se selecciona de 2'-FL, 3-FL, DFL y LNFP-I, y el oligosacárido de la leche humana neutro no fucosilado se selecciona de LNT y LNnT.
- 30 6. El oligosacárido de la leche humana neutro o la composición sintética para uso según la reivindicación 3, en el que la mezcla de un oligosacárido de la leche humana neutro fucosilado y no fucosilado es una mezcla de
- 2'-FL y/o DFL, y
- LNnT y/o LNT.
- 35 7. La mezcla o la composición sintética para uso según la reivindicación 2, en la que la mezcla comprende
- 2'-FL y/o DFL, y
- LNnT y/o LNT.
8. La composición sintética para uso según la reivindicación 1 o 2, que es una composición nutricional.
- 40 9. El oligosacárido de la leche humana neutro para uso según la reivindicación 6, la mezcla para uso según la reivindicación 8 o la composición sintética para uso según la reivindicación 7 u 8, en el que la relación másica de 2'-FL y/o DFL: LNnT y/o LNT es 4:1 a 1:1.
- 45 10. El oligosacárido de la leche humana neutro, la mezcla o la composición sintética para uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que al paciente se le administra una cantidad mayor, preferiblemente 5 g a 10 g por día, de uno o más HMO neutros durante un período de tratamiento inicial, seguido de una cantidad menor, preferiblemente 1 g a 5 g por día, de uno o más HMO neutros durante un período de mantenimiento.
- 50 11. El oligosacárido de la leche humana neutro, la mezcla o la composición sintética para uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que se incrementa la abundancia de bifidobacterias en el paciente.
12. El oligosacárido de la leche humana neutro, la mezcla o la composición sintética para uso según la reivindicación 11, en el que la *Bifidobacterium* es la del grupo filogenético de *B. adolescentis*.
- 55 13. El oligosacárido de la leche humana neutro, la mezcla o la composición sintética para uso según la reivindicación 12, en el que la *Bifidobacterium* del grupo filogenético de *B. adolescentis* es *Bifidobacterium adolescentis* y/o *Bifidobacterium pseudocatenulatum*.