



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 356 357**

51 Int. Cl.:

A61K 38/44 (2006.01)

A61K 38/52 (2006.01)

A23L 1/03 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61K 9/48 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08707777 .2**

96 Fecha de presentación : **20.02.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2124640**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.12.2009**

54

Título: **Isomerasa de glucosa para su uso en el tratamiento de la intolerancia a la fructosa.**

30

Prioridad: **20.02.2007 DE 10 2007 008 664**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.04.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.04.2011

73

Titular/es: **VITACARE GmbH & Co. KG.**
Jahnstrasse 49
60318 Frankfurt, DE

72

Inventor/es: **Wyrobnik, Daniel, Henry y**
Wyrobnik, Isaac, Harry

74

Agente: **García Egea, Isidro José**

ES 2 356 357 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

Isomerasa de glucosa para su uso en el tratamiento de la intolerancia a la fructosa.

5 CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a agentes para su uso en el tratamiento o el diagnóstico de la intolerancia a la fructosa.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La patente estadounidense US2003/113310 describe el uso de la isomerasa de glucosa para tratar o prevenir la obesidad y la diabetes.

15 La patente japonesa JP2000125883 describe una nueva forma de fructocinasa y sugiere que la fructocinasa se puede utilizar para, entre otras cosas, el tratamiento de diagnóstico de la intolerancia hereditaria a la fructosa.

La patente PCT WO2007/057749 describe el uso de la deshidrogenasa 5-D-fructosa, opcionalmente en combinación con una o más enzimas tales como la isomerasa de glucosa, para el tratamiento de la intolerancia a la fructosa.

La patente PCT WO2007/059955 describe el uso de la deshidrogenasa 5-D-fructosa, opcionalmente en combinación con una o más enzimas tales como la isomerasa de glucosa, para el tratamiento de la adiposidad.

25 La patente PCT WO2007/059956 describe el uso de la deshidrogenasa 5-D-fructosa en combinación con isomerasa de glucosa para el tratamiento de la diabetes.

Tanto la patentes estadounidense US6372476 y como la PCT 2004/044129 divulgan nuevas isomerasas de glucosa que se pueden utilizar en la elaboración de alimentos.

30 LA INVENCION

El objeto de la invención es un agente para su uso en el caso de intolerancia a la fructosa que contiene un compuesto que afecta a la conversión de fructosa en glucosa. El término "intolerancia a la fructosa" se usa en el contexto de esta solicitud de patente para significar no sólo la intolerancia a la fructosa y trastorno de metabolismo de fructosa definidos médicamente (vid. *Infra*), sino cualquier forma de deterioro y dolencias que tienen lugar como resultado del consumo de fructosa o comestibles que contienen fructosa, o debido a la liberación de fructosa en el tracto digestivo de humanos o animales procedente de otras sustancias, como la sucrosa.

40 De acuerdo con la presente invención, los términos "comida" y "comestibles" se usan como sinónimos. Se extienden a la alimentación en el sentido de alimentación animal.

La fructosa es, desde luego, una ketohexosa, y es un importante ingrediente alimenticio que proporciona energía. Está presente como componente de di- y polisacáridos, pero también como fructosa libre en numerosos comestibles. La comida, como puede ser la fruta y los zumos de frutas, contiene grandes cantidades de fructosa, pero, en particular, también sucrosa, que se adhiere a la fructosa y a la glucosa en el cuerpo. *Supra*, el término "contenido en fructosa" se usa para significar todas las sustancias y comestibles que, o bien contengan fructosa en forma pura o de la que pueda ser liberada la fructosa en el tracto digestivo. El "contenido en fructosa" de las sustancias y comestibles se refiere a toda la fructosa en un sustancia o comida que contenga fructosa en cualquiera forma (por ejemplo, también como parte de sucrosa) en la que esté contenida en tal comida o sustancia.

En contraste con la glucosa, la fructosa se asimila en las células de la mucosa del intestino delgado por difusión intermediada por portador aligerado. La degradación enzimática comienza en el hígado por la acción de la fructocinasa dependiente del trifosfato de adenosina (TFA), en el que la fructosa se convierte en fructosa-1-fosfato. En el hígado y en los riñones, la fructosa-1-fosfato se adhiere al aldehído de glicerina y al fosfato de dihidroxiacetona por aldolasa B.

Se conocen tres tipos diferentes de trastorno del metabolismo de la fructosa en humanos, en especial la intolerancia hereditaria a la fructosa, intolerancia intestinal a la fructosa, y deficiencia de fructosa-1,6-difosfatasa. Adicionalmente, exista la fructosuria, que, generalmente, no requiere tratamiento de acuerdo con el pensamiento médico actual.

La intolerancia hereditaria a la fructosa (IHF) resulta de una deficiencia de aldolasa B, una enzima que se produce en la mucosa intestinal, en el hígado, en linfocitos y en los riñones. Esta enzima generalmente descompone la fructosa-1-fosfato en fructosa-1,6-bifosfato por medio de etapas intermedias. Si se presenta una deficiencia de aldolasa B, tiene lugar un exceso de fructosa-1-fosfato, llevando a una inhibición de la descomposición del glicógeno

y de gluconeogénesis y, a su vez, a una severa hipoglicemia con estallidos de sudor, temblor, vómito y calambres después de la toma de fructosa. Pueden darse acidosis, daño en el riñón y aminoaciduria si esto permanece sin diagnosticar. En niños, el riesgo va desde hemorragias a síndrome de muerte súbita del lactante.

5 Los síntomas de la intolerancia intestinal generalizada a la lactosa son diferentes y su incidencia está mostrando una tendencia a su incremento, especialmente en las naciones occidentales industrializadas. Está provocada por un trastorno de absorción de la fructosa que resulta del deterioro de los procesos de transporte en la mucosa del intestino delgado. Estos afectados sufren de síntomas abdominales no especificados y, como resultado de la descomposición bacteriana y de los carbohidratos que pasan al interior del colon, se incrementa la producción de gases intestinales. Los síntomas incluyen, por ejemplo, una sensación de hinchazón, flatulencia, dolor de estómago tipo cólico, diarrea líquida, y ruidos abdominales. Esto es diagnosticado a menudo, de forma incorrecta, como colon irritable.

15 La deficiencia de fructosa-1,6-difosfatasa implica un defecto de esta enzima clave en la gluconeogénesis. Esto provoca un incremento en los niveles de lactosa en la sangre después de la exposición a la fructosa y la hipoglicemia de ayuno, con lactacidosis, convulsiones, hipotensión muscular, y coma. El desarrollo de un hígado graso también lleva a la hepatomegalia.

20 No todos los trastornos del metabolismo de la fructosa llevan necesariamente a una intolerancia severa a la fructosa. Sin embargo, incluso en trastornos leves del metabolismo de la fructosa, se observan frecuentes deterioros en la salud, que, hasta ahora, sólo pueden ser manejados por un cambio en la dieta. El consumo excesivo de comestibles que contienen fructosa puede llevar también a deterioros en la salud.

25 Los síntomas y dolencias mencionados *supra*, sólo podrían ser evitados hoy en día observando una dieta libre de fructosa, sucrosa y sorbitol. Sin embargo, es muy difícil para los afectados observar tal dieta, en cuanto todas las frutas y muchas verduras contienen fructosa, y es ampliamente usada como edulcorante por la industria alimenticia. Todas las comidas que contienen, por ejemplo, sucrosa (azúcar doméstico) deben ser igualmente evitadas. Tal dieta, que ya de por sí es muy estricta en el supuesto de intolerancia hereditaria a la fructosa, no solamente es muy difícil de observar, sino que también es extremadamente desfavorable desde un punto de vista fisiológico y nutritivo, y deteriora considerablemente la calidad de vida de los afectados. No sólo los afectados, sino también la comunidad especializada, consistente de médicos, especialistas, científicos nutricionales, asesores nutricionales, periodistas especializados, etc., han asumido durante décadas que no hay alternativa a la observancia de la dieta descrita *supra*. La investigación centrada en la consecución de una alternativa a esta dieta ha permanecido infructuosa hasta el momento. Un agente que hiciera posible conseguirlo sin observar tal dieta y que permitiera la toma de comida que contenga fructosa satisfaría así una urgente necesidad para las muchas personas afectadas que ha existido durante décadas. Ayudaría a superar un prejuicio que ha sido fijado en el mundo especializada y entre los afectados y significaría una mejora muy considerable y un trascendental paso adelante en las opciones terapéuticas y nutricionales en la intolerancia a la fructosa, en cuanto, además de observar una dieta, no ha habido, sencillamente, una terapia disponible hasta la fecha. Tal agente pondría un punto final a los hasta ahora infructuosos esfuerzos del mundo especializado para permitir a los afectados comer con normalidad y consumir comidas que contengan fructosa sin sufrir efectos laterales. La importancia de tal agente se hace muy clara si uno toma también en cuenta que los afectados por la intolerancia hereditaria a la fructosa se ven amenazados por las consecuencias más graves y peligrosas para su salud, si, por ejemplo, de forma inconsciente, inadvertida o no intencional, consumen fructosa. Todo esto sería aún más predicable de un agente que, además, no tuviera efectos negativos para la salud.

50 Así, es objeto de la presente invención, proporcionar un agente eficaz que pueda ser usado no solamente para trastornos leves del metabolismo de la fructosa, sino también en intolerancia hereditaria e intestinal a la fructosa y en deficiencia a la fructosa-1,6-difosfatasa, especialmente con objeto de permitir el consumo de comestibles que, normalmente, contengan fructosa incluso en caso de intolerancia a la fructosa. Además, es objeto de la invención el hacer posible a los afectados por la intolerancia a la fructosa el comer comestibles que no les estaban permitidos, debido a su contenido en fructosa. Ulteriormente, el objetivo es proporcionar un agente que pueda reducir o prevenir la aparición de síntomas de intolerancia a la fructosa después de su ingestión.

55 Estos objetivos se ven alcanzados por la invención tal y como se detallan en las reivindicaciones 1 a 17 anexas.

60 Por tanto, el objeto de la invención es un agente para su uso en la solución de los problemas descritos *supra*. El agente contiene isomerasa de glucosa. Una isomerasa de glucosa es, en el sentido de esta invención, una enzima capaz de convertir fructosa en glucosa. Esta conversión puede también ser conseguida por una isomerasa de xilosa. En el sentido de esta invención, una isomerasa de xilosa es también una isomerasa de glucosa. Un posible método para producir una isomerasa de xilosa se describe en Yamanaka, *Biochimica et Biophysica Acta*, issue 151 (3), 1968, 670-680, "Purification, Crystallization and Properties of the D-Xylose-Isomerase from *Lactobacillus brevis*"; y en Yamanaka, *Methods in Enzymology*, issue 41, 1971, 466-471, "D-Xylose Isomerase from *Lactobacillus brevis*".

5 El agente de acuerdo con la presente invención puede llevar a cabo la conversión de la fructosa de la comida o de la pulpa de la comida en glucosa. La fructosa, así, no está disponible para el metabolismo bacteriano en los intestinos que se caracteriza por fermentación, y ya no puede tener lugar un exceso de fructosa-1-fosfato en el hígado o en cualquier otro sitio. Esto puede prevenir un incremento en los niveles de lactosa en la sangre.

Un objeto de la invención es, por tanto, un agente para su uso en la reducción de la biodisponibilidad de la fructosa en el cuerpo humano o animal con la ayuda de isomerasa de glucosa.

10 También es objeto de la invención un agente que, con la ayuda de isomerasa de glucosa, reduce la cantidad de fructosa disponible al cuerpo humano o animal o a las bacterias intestinales que lo colonizan.

Otro objeto de la invención es un agente para su uso en el caso de intolerancia a la fructosa, que contiene isomerasa de glucosa.

15 Un objeto ulterior de la invención es el uso de isomerasa de glucosa en el caso de intolerancia a la fructosa.

La isomerasa de glucosa, que pertenece al grupo de las isomerasas, es una enzima que tiene la propiedad de convertir D-fructosa en D-glucosa y viceversa. Aquí, se establece un equilibrio de aproximadamente 50 % de glucosa y 50 % de fructosa, dependiente de la temperatura ambiente. En cuanto la fructosa sólo es absorbida lentamente del intestino delgado, la glucosa es un azúcar que es fácilmente digerido y rápidamente absorbido.

20 La invención se basa así en fructosa ingerida que se convierte *in vivo* en isomerasa de glucosa que es consumida de forma simultánea o, al menos, escasamente antes o después. La enzima, entonces, trata de conseguir el equilibrio mencionado *supra* mediante la conversión de fructosa en glucosa. Sin embargo, la glucosa es absorbida muy rápidamente, de tal forma que no puede ser alcanzado el equilibrio. La enzima continúa convirtiendo la fructosa aún disponible en la pulpa de la comida en glucosa hasta no haber nada de fructosa. La dosis de isomerasa de glucosa puede ser seleccionada de tal forma que, incluso si se consumen mayores cantidades de fructosa, la reacción puede tener lugar tan rápidamente que no se absorbe ninguna fructosa o que la cantidad de fructosa absorbida en el intermedio es demasiado pequeña como para provocar las dolencias gastrointestinales conocidas en el caso de trastornos leves del metabolismo de la fructosa e intolerancia intestinal a la fructosa y las dolencias sistémicas conocidas en el caso de intolerancia hereditaria a la fructosa y deficiencia de fructosa-1.6-difosfato.

25 De acuerdo con la presente invención, puede ser también usada una isomerasa de glucosa para reducir el contenido en fructosa de un comestible.

30 Los comestibles, en el sentido de esta invención, también comprenden, entre otras cosas, comestibles para usos nutricionales particulares, comidas para objetivos médicos específicos, alimentos medicinales, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos, suplementos comestibles dietéticos, comidas sanas, nutricionales y aditivos comestibles.

35 De una forma particularmente sencilla, la invención facilita la transformación de la fructosa de un comestible en una forma que evita los problemas que acompañan a la intolerancia a la fructosa. Así, la invención hace también posible a la gente afectada por la intolerancia a la fructosa el consumir tales comestibles, que tenían que ser evitados hasta hora por razón de su contenido en fructosa.

40 De acuerdo con la presente invención, la isomerasa de glucosa se cita ulteriormente para su uso en medicina para curar, aliviar, prevenir o determinar la intolerancia a la fructosa, por ejemplo, como una composición farmacéutica. Consecuentemente, es también objeto de la presente invención un producto que consiste de isomerasa de glucosa – o que la contiene junto con uno o más ingredientes activos adicionales, para un uso médico como se define aquí. En el sentido de esta invención, una composición farmacéutica es un producto, en concreto una sustancia o una mezcla de sustancias, para su uso en un método para el tratamiento quirúrgico o terapéutico del cuerpo humano o animal y en métodos de diagnóstico que son llevados a cabo en el cuerpo humano o animal. Así, en el sentido de la invención, las composiciones farmacéuticas son también productos, en concreto sustancias o mezclas de sustancias que están destinadas o son aptas para curar, aliviar, prevenir o determinar la intolerancia a la fructosa.

45 De acuerdo con un aspecto ulterior de la presente invención, un comestible contiene la isomerasa de glucosa. Adicionalmente, de acuerdo con la presente invención, se usa un comestible que contiene isomerasa de glucosa en una cantidad suficiente para convertir fructosa en glucosa. Tal comestible puede ser producido con provecho utilizando un método para tratar un comestible en el que el comestible está puesto en contacto con una isomerasa de glucosa bajo tales condiciones en las cuales la isomerasa de glucosa puede convertir fructosa en glucosa. En contraste con otros, por otro lado sin tratar, comestibles, tal comestible tiene un contenido reducido en fructosa y, por tanto, por primera vez, es apto para su consumo por personas que sufran de intolerancia a la fructosa. Es especialmente ventajoso que un comestible pueda ser preparado por un método en el cual una isomerasa de glucosa se añade al comestible de tal manera que la acción de la isomerasa de glucosa sólo empieza

después de la toma del comestible. Tal comestible que contiene isomerasa de glucosa tiene el mismo sabor que un comestible no tratado y es, por primera vez, apto para su consumo por personas que sufran de intolerancia a la fructosa, debido al reducido contenido en fructosa verificado después de la ingestión.

5 De acuerdo con un aspecto ulterior, de acuerdo con la presente invención, un dispositivo médico puede contener la isomerasa de glucosa. Consecuentemente, un objeto de la invención es también el uso de un dispositivo médico que consista de isomerasa de glucosa o la contenga junto con uno o más ingredientes activos adicionales. En el sentido de esa invención, un "dispositivo médico" significa cualquier instrumento, aparato, aplicación, material u otro artículo, ya sea usado solo o en combinación, incluyendo el software necesario para su correcta aplicación prevista por el fabricante para su uso para seres humanos con el objeto de:

- Diagnóstico, prevención, monitorización, tratamiento o paliación de enfermedad,
- Diagnóstico, monitorización, tratamiento, paliación de o recuperación de un daño o minusvalía.
- Investigación, reemplazo o modificación de la anatomía o de un proceso fisiológico,
- 15 - Control de la concepción,

Y que no consigue su eficacia primeramente buscada en o sobre el cuerpo humano por medios farmacológicos, inmunológicos o metabólicos, pero que puede ser asistida en su función por tales medios;

20 Cualquier instrumento, aparato, aplicación, material u otro artículo que no consigue su eficacia buscada en o sobre el cuerpo humano no es un dispositivo médico en el sentido de esta aplicación.

A continuación, la invención será descrita en sus variados aspectos. Si el término agente se usa *infra*, representa siempre un comestible, un dispositivo médico o una composición farmacéutica.

25 La isomerasa de glucosa es un compuesto que es conocido desde hace más de 40 años y sólo ha sido usado hasta la fecha para la sacarificación del almidón. En la industria, se usa para la conversión de glucosa en fructosa así como para la conversión de fructosa en glucosa.

30 Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden ser ingeridos en forma oral antes de las comidas, en las comidas o inmediatamente después de las comidas, de tal manera que puedan ejercer su efecto conversor o de – hidrogenador en la fructosa de la pulpa de la fruta. Preferentemente, los agentes de acuerdo con la presente invención pueden contener la enzima sin aditivos adicionales. Sin embargo, es preferible que los agentes de acuerdo con la presente invención contengan además aditivos que sean farmacéuticamente aceptables y/o aceptables para los comestibles, tales como extensores, vinculantes, estabilizadores, preservativos, aromatizantes, etc. Tales aditivos son usados en forma común y conocidos para la producción de compuestos farmacéuticos, dispositivos médicos, comestibles, comestibles para usos nutricionales particulares, comidas para fines médicos específicos, comidas médicas, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos, suplementos de comidas dietéticas, alimentos sanos, nutricionales y aditivos alimenticios y los expertos en la materia conocen qué aditivos y en qué cantidades son adecuadas para formas de presentación en particular. Son especialmente preferibles, los agentes, de acuerdo con la presente invención, que contengan como aditivos fosfato dicálcico, lactosa, almidón modificado, celulosa microcristalina, matodextrina y/o fibersol.

45 Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden ser también añadidos a un comestible antes de su ingestión. Pueden ser incluso añadidos al comestible en la fase de producción, con el objetivo de desarrollar su efecto sólo después de consumir el comestible. Esto podría ser conseguido, posiblemente, por microencapsulación, por ejemplo. De esta forma, el contenido útil en fructosa del comestible se vería reducido de una forma especialmente provechosa, sin afectar negativamente a su sabor. En consecuencia, las preparaciones que contengan isomerasa de glucosa, preferentemente no liberan esta enzima o estas enzimas hasta que alcanzan el tracto digestivo de un humano o un animal o se hacen efectivas de otra forma, especialmente en el estómago o en el intestino delgado. En consecuencia, la invención podría ser usada, por ejemplo, en la producción de dulces, de preparaciones de fruta (por ejemplo, salsa de manzana), mermelada, miel, chocolate y productos de chocolate, productos de confitería (por ejemplo, galletas y pasteles), panes, pastas, platos vegetales, platos de patatas, helados, cereales, productos lácteos (por ejemplo, yogur de frutas y budín), bebidas que contengan fructosa, salsas que contengan fructosa (por ejemplo, Ketchup de tomate) y edulcorantes que contengan fructosa. Para platos cocidos u horneados, los agentes de acuerdo con la presente invención podría, por ejemplo, ser mezclado o esparcidos sobre los mismos después de su enfriamiento.

60 En cuanto la fructosa se usa ampliamente como edulcorante en comestible especialmente producidos para los diabéticos, la adición de los agentes de acuerdo con la presente invención a comida para diabéticos es especialmente provechosa, para permitir que los diabéticos que sufren de intolerancia a la fructosa coman comida para diabéticos, tal como los comestibles mencionados *supra* en sus formas respectivas como comidas para diabéticos.

65 Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden ser también añadidos a un comestible para producir su efecto sobre la fructosa originada en otro comestible. Un ejemplo de esto sería la adición de los agentes

de acuerdo con la presente invención en una extensión tal que la reducción de la fructosa útil contenida en el pan tiene lugar después de la ingestión del pan, sin afectar al sabor del pan. Otro ejemplo sería el de las especies mezcladas.

5 Otro objeto de la presente invención comprende el uso de agentes que, además de otros ingredientes activos, contienen también isomerasa de glucosa.

10 La invención puede ser formulada en cualquier forma que sea adecuada para la vía pretendida de administración. Para la administración oral, los agentes de acuerdo con la presente invención están preferentemente formulados en forma de cápsulas (revestidas o no revestidas), tabletas (revestidas o no revestidas), cápsulas que contengan bolitas revestidas o no revestidas, gránulos, o micro o minitabledas, tabletas presionados de bolitas revestidas o no revestidas, grageas, o micro o minitabledas, cápsulas de gel o, en forma líquida, como una solución, gotas, suspensión o gel. La formulación del agente de acuerdo con la presente invención como un polvo es particularmente adecuada para una mezcla en un comestible. El polvo puede ser esparcido sobre una comida
15 puede estar mezclado en una pulpa o una bebida. Es especialmente adecuado si el agente ofertado como un polvo a granel es empaquetado en cantidades de dosis única, tal como en bolsas o cápsulas individualizadas, o si es suministrado en un aparato dosificador. Es especialmente preferible si los agentes de acuerdo con la presente invención son formulados como un polvo o como gránulos en cápsulas o como una tableta, que son administrados por vía oral.

20 Para su administración oral, el ingrediente activo isomerasa de glucosa puede estar contenido en excipientes y/o portadores aceptables. El término "portador aceptable" se refiere a un portador para su uso farmacéutico que dirige el ingrediente activo a su zona objetivo y que no tiene efectos negativos para el receptor, sea humano o animal. Sin embargo, la forma exacta del portador no es relevante.

25 La cantidad total del portador y/o excipientes de una agente que contenga isomerasa de glucosa está preferentemente entre 5 y 99.9 % por peso, más preferentemente entre 10 y 95 % por peso y aún más preferentemente entre 25 y 90 % por peso de la composición.

30 Los excipientes y/o portadores adecuados incluyen la maltodextrina, carbonato de calcio, fosfato dicalcio, fosfato tricalcio, celulosa microcristalina, dextrosa, harina de arroz, estearato de magnesio, ácido esteárico, sodio de croscaramelosa, glicolato de almidón de sodio, crospovidona, sucrosa, gomas vegetales, lactosa, metilcelulosa, povidona, celulosa de carboximetilo, almidón de maíz, almidón modificado, fibrasol, gelatina, celulosa de hidroxipropilmetilo y similares (incluyendo mezclas de los mismos). Los portadores preferidos incluyen carbonato de calcio, estearato de magnesio, maltodextrina, fosfato dicalcio, almidón modificado, celulosa microcristalina, fibrasol, gelatina, celulosa de hidroxipropilmetilo y mezclas de los mismos. Los variados ingredientes y el excipiente y/o el portador están mezclados y formados con la forma deseada usando métodos comunes. La forma de presentación indicada para la administración oral de acuerdo con la presente invención, tal como una tableta o cápsula, puede estar revestida con un revestimiento resistente a bajos valores de pH. Esto hace posible a la enzima o enzimas ser liberadas solamente cuando alcanzan el intestino delgado. También puede ser usado un revestimiento que no sea resistente contra bajos valores de pH pero que proporcione una liberación retrasada de la enzima respectiva en bajos valores de pH. Es posible también preparar el agente de acuerdo con la presente invención como bolitas, gránulos o micro- o mini-tabletas revestidas (ver *supra*) con los que pueden ser rellenas cápsulas no revestidas o que pueden ser presionadas en tabletas no revestidas. Revestimientos adecuados son, por ejemplo, fetalato de acetato de celulosa, derivados de la celulosa, laca, derivados de la polivinilpirrolidona, ácido acrílico, derivados del ácido poliacrílico y metacrilato de polimetilo (MAPM), tales como Eudragit® (de Röhm GmbH, Darmstadt), en especial Eudragit® FS30D (libera el constituyente activo o los constituyentes que comienzan a un pH de alrededor de 6.8) y Eudragit® L30D-55 (libera el constituyente activo o los constituyentes que comienzan a un pH de alrededor de 5.5). Si se desea liberar la/s enzima/s y a un valor de pH inferior, esto se puede conseguir, por ejemplo, por la adición de solución de hidróxido de sodio al agente revestido Eudragit® L30D-55, porque en este caso los grupos carboxilos del metacrilato serían neutralizados. En consecuencia, este revestimiento será disuelto, por ejemplo, ya a un valor de pH de 4.0 siempre que el 5 % de los grupos carboxilos sean neutralizados. La adición de alrededor de 100 grs. De 4 % de solución de hidróxido de sodio a 1 kilogramo de Eudragit® L30D-55 resultaría en una neutralización de alrededor del 6 % de los grupos carboxilos. Detalles adicionales sobre los métodos de formulación y los métodos de administración pueden encontrarse en la vigésimo primera edición de "*Remington: The Science & Practice of Pharmacy*", publicado en 2005 por Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, Estados Unidos, en la *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* (Editor James Swarbrick) y en el "*Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie*", del Profesor Bauer, decimoctava edición, publicado en 2006 por *Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft* (ISBN 3804-72222-9).

60 Otros portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en la presente invención incluyen agua, aceite mineral, glicol de etileno, glicol de propileno, lanolina, estearato de glicerilo, estearato de sorbitán, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, acetona, glicerina, fosfatidilcolina, colate de sodio o etanol.

Las composiciones para su uso en la presente invención pueden comprender también al menos un agente co-emulsionante, lo que incluye monoestearato de sorbitán oxietilenado, alcoholes grasos, tales como alcohol estearilo o alcohol cetilo, o esteros de ácidos grasos, y poliols, tales como el estearato de glicerilo.

Preferentemente, los agentes para su uso en la presente invención se proporcionan en forma estabilizada. Generalmente, los métodos de estabilización y los procedimientos que pueden ser usados de acuerdo con la presente invención incluyen algunos y todos los métodos para la estabilización de material químico o biológico conocido en el estado de la técnica, comprendiendo, por ejemplo, la adición de agentes químicos, métodos basados en modulación de la temperatura, métodos basados en la irradiación o combinaciones de los mismos. Los agentes químicos que pueden ser usados de acuerdo con la presente invención incluyen, entre otros, conservantes, ácidos, bases, sales, antioxidantes, reforzadores de la viscosidad, agentes emulsionantes, gelatinizadores y mezclas de los mismos.

De forma convencional, la producción industrial de enzimas se lleva a cabo en un método de fermentación técnica usando microorganismos adecuados (bacterias, mohos, levaduras). Las cepas están recubiertas de ecosistemas naturales de acuerdo a un protocolo especial de detección, aislados como cultivos puros además de mejorados en sus propiedades con respecto al espectro de las enzimas y rendimiento de la biosíntesis (producción volumen/tiempo). Las enzimas pueden ser también producidas usando métodos que se desarrollen en el futuro.

La isomerasa de glucosa está disponible en el mercado (por ejemplo, Novozymes A/S, Dinamarca y Danisco, Dinamarca) y es preparada, generalmente, en una forma microbiológica con la ayuda del microorganismo *Streptomyces murinus*. También está disponible dehidrogenasa 5-D-fructosa en el mercado (por ejemplo, Sigma-Aldich y Toyobo, Japón) y se prepara, de forma convencional, con la ayuda del microorganismo *Gluconobacter industrius*. Sin embargo, la invención no se limita a las enzimas comercialmente disponibles en el momento actual, pero, en general, se relaciona con las enzimas que pueden producir la conversión de fructosa – específicamente o no – en glucosa o 5-keto-D-fructosa. Un experto en la materia puede preparar, posteriormente, enzimas adecuadas por métodos convencionales, por ejemplo por mutagénesis del gen que codifica la isomerasa de glucosa que está presente en el *Streptomyces murinus* o por mutagénesis del gen que codifica 5-D-fructosa dehidrogenasa que está presente en el *Gluconobacter industrius*. Las enzimas pueden ser también preparadas con la ayuda de otros microorganismos, tales como hongos, en cantidades suficientes y con las purezas requeridas, también por el uso de métodos de ingeniería genética comunes hoy en día. Si se desea, por ejemplo, producir las enzimas con otros microorganismos, la información genética de un microorganismo que ha sido inicialmente hallado por detección extensiva y del que se ha comprobado su actitud como fuente adecuada de la enzima con las propiedades deseadas puede ser transferido a un microorganismo que se usa normalmente para la producción de enzimas. También es posible la modificación de la/s enzima/s por medio de métodos actualmente conocidos o que puedan ser desarrollados en el futuro en el campo del desarrollo industrial de enzimas y la producción de enzimas, tal como la ingeniería genética. El uso y la forma de implementar todos estos métodos para desarrollar y producir la/s enzima/s con las purezas y actividades deseadas y con las propiedades deseadas, en especial, en cuanto a la estabilidad de la/s enzima/s en variados valores de pH, en cuanto al valor óptimo del pH, la estabilidad a temperaturas variadas y la temperatura óptima, son conocidas para el experto en la materia. El explicaciones en el capítulo 2 (página 82 a página 130) del libro de texto “*Lebensmittel-Biotechnologie und Ernährung*” de Heinz Ruttloff, Jürgen Proll y Andreas Leuchtenberger, publicado por Springer Verlag (ISBN 3-540-61135-5) describen estos métodos en detalle. Estos métodos están también descritos en “*Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine*”, por Jan S. Tkacz, Lene Langeand (publicado en 2004, ISBN 0-306-47866-8), en “*Enzymes in Industry: Production and Applications*” por Wolfgang Aehle (editor), publicado en 2004, ISBN 3527295925 y en “*Microbial Enzymes and Biotransformations*”, por José Luis Barredo (Humana Press 2005, ISBN 1588292533). Todo esto vale también para las enzimas mencionadas *infra* que pueden ser opcionalmente añadidas al agente de acuerdo con la presente invención.

La actividad de la isomerasa de glucosa se define en unidades de acuerdo con la presente invención, por lo cual una unidad es la cantidad de isomerasa de glucosa que convierte 1 gramo de fructosa en glucosa en 5 minutos a un pH de 7.5 y una temperatura de 37° C desde un 10 % inicial de solución por peso (esto es, 10 grs. de fructosa + 90 grs. de agua).

A una actividad enzimática determinada de acuerdo con esta definición, el agente de acuerdo con la presente invención debería contener isomerasa de glucosa en una cantidad o actividad de 0.01 a 100.000 UIG (=unidades de isomerasa de glucosa), preferentemente de 0.05 a 10.000 UIG y, especialmente preferible, de entre 0.1 a 1.000 UIG por unidad de dosis.

El amplio intervalo de las dosis mencionadas supra puede ser explicado por el hecho de que el/los agente/s de acuerdo con la presente invención puede/n ser aplicado/s en tres tipos de intolerancia a la fructosa muy diferentes, esto es, en intolerancia hereditaria a la fructosa, intolerancia intestinal a la fructosa y deficiencia de fructosa-1,6-difosfatasa, en sus intervalos de diferentes gravedades, y también en trastornos leves del metabolismo de la fructosa. Además, las diferentes dosis resultan también del hecho de que se administran al cuerpo cantidades de fructosa que varían fuertemente, dependiendo de la comida respectiva. La enzima o las enzimas deberían ser usadas en suficiente cantidad de tal forma que si ella o ellas desarrollan una actividad enzimática suficientemente

alta, en otras palabras, suficiente isomerasa de glucosa para convertir una cantidad de fructosa consumida en una comida normal (por ejemplo, 10 – 50 gramos) – en forma libre o vinculada – en glucosa.

5 El agente de acuerdo con la presente invención puede comprender una o más enzimas adicionales, tales como invertasa (sin. Beta-fructofuranosidasa o beta-fructosidasa), lactasa (sin. Beta-galactosidasa), maltasa (sin. Alfa-glucosidasa), alfa-amilasa, beta-amilasa, glucoamilasa, pululanasa, isoamilasa, amiloglucosidasa, glucatransferasa de ciclomaltodextrina (GTCasa). Estas enzimas tiene la propiedad de liberar fructosa y/o glucosa de sustancias y comestibles que contienen fructosa y/o glucosa – solas o en combinación con un o más de estas enzimas -, por lo que las enzimas pululanasa e isoamilasa también incrementan la eficiencia de glucoamilasa y beta-amilasa. Todas estas encimas están disponibles en el mercado (por ejemplo, BioCat Inc., Troy, Estados Unidos, o Novozymes A/S, Dinamarca o Amano Enzymes Inc., Japón o Sigma-Aldrich) y, hasta ahora, nunca habían sido usadas en combinación con isomerasa de glucosa en el campo médico/farmacéutico, especialmente no han sido usadas para el caso de intolerancia a la fructosa. Así, esta aplicación divulga la primera indicación médica para isomerasa de glucosa en combinación con alguna o todas estas enzimas. Ejemplos de agentes de acuerdo con la presente invención incluyen:

Isomerasa de glucosa en combinación con invertasa, o isomerasa de glucosa en combinación con maltasa, o isomerasa de glucosa en combinación con invertasa y maltasa.

20 Por ejemplo, dicha invertasa puede liberar fructosa a partir de, por ejemplo, sucrosa.

Por la adición de una o más de estas enzimas al agente de acuerdo con la presente invención, puede ser también promovida y acelerada la liberación endogénica de fructosa a partir de sustancias o comestibles que contengan fructosa, en particular a partir de sucrosa, de tal forma que la conversión de fructosa en glucosa pueda tener lugar antes. En consecuencia, la adición de una o más de estas enzimas al agente de acuerdo con la presente invención puede tener como beneficio la reducción de la cantidad requerida de isomerasa de glucosa.

30 La actividad de la invertasa se mide en unidades Sumnes (US, ensayo disponible, por ejemplo, de Bio-Cat Inc., Troy, Virginia, Estados Unidos). Una US es definida como la cantidad de la enzima que convierte 1 mgr. de sucrosa en glucosa y fructosa bajo condición de testado normalizadas en un intervalo de 5 minutos a 20° C y a un valor pH de 4.5. Si el agente de acuerdo con la presente invención contiene también invertasa, la actividad de la invertasa por unidad de dosis debería estar entre 50 y 250.000 US, preferentemente entre 100 y 150.000 US y, especialmente preferente entre 150 y 100.000 US por unidad de dosis.

35 La actividad de la maltasa se define en unidades, en donde una unidad es la cantidad de maltasa que convertirá maltosa en D-glucosa a una tasa de un miligramo por minuto a 37 ° C y un pH de 4.0 en una solución de 10% de maltosa por peso.

40 Cuando el agente de acuerdo con la presente invención también contiene maltasa, la actividad por unidad de dosis debe ser de entre 100 y 100.000 unidades, preferiblemente entre 200 y 50.000 unidades y, en particular, preferiblemente entre 500 y 20.000 unidades.

45 En el caso de intolerancia hereditaria a la fructosa, es particularmente preferible que, además de la isomerasa de glucosa, se agregue ácido fólico en una cantidad de 1 mg a 100 mg, preferentemente de 2 mg a 50 mg y en particular, preferentemente de 3 mg a 10 mg por unidad de dosis, a el/los agente/s de acuerdo con la presente invención, a medida que el ácido fólico aumenta la actividad de aldolasa B.

50 Puede ser ventajoso agregar un aceptador al agente de acuerdo con la presente invención, por ejemplo, en una proporción (aceptador: sustrato) de 1:1 a 1:1000, preferiblemente en una proporción de 1:2 a 1:200 y especialmente preferente en una proporción de 1:10 a 1:50. Ejemplos de aceptadores adecuados que se pueden utilizar son el NAD⁺, NADP⁺, FAD⁺, vitaminas como la vitamina C, vitamina E o vitamina A, cianuro de hierro, cetonas, aldehídos, 2,6-diclorofenol-indofenol, metosulfato de fenazina y tetrazolio de nitroazul (incluidas sus mezclas).

55 También puede ser ventajoso agregar iones metálicos al agente de acuerdo con la presente invención, especialmente cationes como Mn²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Zn²⁺, Fe²⁺, Co²⁺ o Cu²⁺, incluyendo sus mezclas, preferentemente en una proporción molar de 10⁻⁶ a 10⁻². Para la isomerasa de glucosa (xilosa) a partir de Yamanaka descrita *supra*, un catión particularmente adecuado es Mn²⁺.

60 Si el agente de acuerdo con la presente invención se añade a un comestible antes de comer o durante su producción, la actividad de la isomerasa de glucosa deben estar entre 0.01 y 20.000 unidades, preferentemente entre 0.05 y 10.000 unidades y, en particular, preferiblemente entre 0,1 y 1,000 unidades por gramos de fructosa en el producto alimenticio.

Los tamaños de cápsula mencionados a continuación se refieren a los tamaños definidos por Capsugel Bélgica BVBA, Bomem, Bélgica. El tamaño de las cápsulas debe ser elegidos de conformidad con la fórmula especificada del agente según la presente invención.

5 Un agente de acuerdo con la presente invención en cápsulas (por ejemplo, de tamaño 3) podría contener, por ejemplo, 15 mg de isomerasa de glucosa (actividad de la isomerasa de glucosa 1 UIG/mg) y 135 mg de fosfato dicálcico por cápsula.

10 Si se usan, por ejemplo, cápsulas del tamaño 1, pueden contener 50 mg de isomerasa de glucosa (actividad de la isomerasa de glucosa 1 UIG / mg), 5 mg de ácido fólico y 150 mg de maltodextrina por cápsula.

15 Otro ejemplo de una composición para la producción de cápsulas consiste en cápsulas de tamaño 00 que contienen 300 mg de isomerasa de glucosa (actividad de la isomerasa de glucosa 1 UIG / mg) y 170 mg de fosfato dicálcico por cápsula.

La invención puede contener, por ejemplo entre 0.01 y 100.000 UIG (= unidades de isomerasa de glucosa) y entre 1 mg y 100 mg de ácido fólico por unidad de dosis. Además, pueden ser utilizados aditivos adecuados en la cantidad requerida.

20 La invención puede estar disponible, por ejemplo, como una composición farmacéutica, dispositivos médicos, productos alimenticios, comestibles para una alimentación especial, alimentos para usos médicos especiales, alimentos médicos, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos, suplementos de alimentos dietéticos, alimentos naturales, nutricionales y aditivos alimentarios.

25 Los agentes de acuerdo con la presente invención se pueden utilizar para aliviar considerablemente o eliminar los síntomas y daños a la salud causados por intolerancia a la fructosa. La invención que aquí se presenta es adecuada para su uso en el caso de intolerancia a la fructosa y para el tratamiento terapéutico de la intolerancia a la fructosa.

REIVINDICACIONES

1. Isomerasa de glucosa para su uso en el tratamiento o el diagnóstico de intolerancia a la fructosa, siempre que la isomerasa de glucosa no se utilice en combinación con deficiencia de 5-D-fructosa.
- 5 2. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 1 en donde el tratamiento comprende (a) la reducción de la biodisponibilidad de la fructosa en el cuerpo de un humano o animal, o (b) la reducción de la cantidad de fructosa disponible para el organismo de un ser humano o animal o para las bacterias intestinales que lo colonizan.
- 10 3. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo a la reivindicación 1, en donde el tratamiento comprende la reducción o prevención de la aparición de los síntomas de intolerancia a la fructosa en un sujeto humano o animal después de la ingestión por el mencionado sujeto de la fructosa o de una sustancia o producto alimenticio que contiene fructosa en forma pura o a partir de los que la fructosa puede ser liberada en el tracto digestivo.
- 15 4. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la intolerancia a la fructosa es la intolerancia a la fructosa intestinal.
- 20 5. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 4 en donde la intolerancia intestinal a la fructosa es causada por un trastorno de la absorción de la fructosa.
- 25 6. Isomerasa de glucosa para su uso según las reivindicaciones 4 ó 5 en donde la terapia comprende la reducción o prevención de la aparición de los síntomas de intolerancia a la fructosa como son sensación de hinchazón, flatulencia, dolor de estómago tipo cólico, diarrea acuosa y ruidos intestinales.
7. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 4 ó 5 en donde la terapia comprende la reducción o prevención de la aparición de un aumento en la producción de gases intestinales.
8. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la isomerasa de glucosa se encuentra en una composición farmacéutica.
- 30 9. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la isomerasa de glucosa se encuentra en un producto alimenticio.
- 35 10. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 9 en donde el producto alimenticio se selecciona de (a) productos alimenticios destinados a una alimentación especial, (b) alimentos destinados a usos médicos especiales, (c) alimentos médicos; (d) complementos alimenticios; (e) suplementos dietéticos; (f) suplementos de comida dietética; (g) alimentación sana; (h) nutricionales e (i) aditivos alimenticios.
- 40 11. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la isomerasa de glucosa se administra por vía oral.
- 45 12. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 11, en donde la glucosa isomerasa se formula en forma de (a) cápsulas recubiertas o no recubiertas o (b) comprimidos recubiertos o no recubiertos o (c) cápsulas que contienen píldoras, gránulos, o micro o mini-tabletas recubiertos o no recubiertos o (d) tabletas prensadas de píldoras, grageas, o micro o mini-tabletas recubiertos o no recubiertos o (e) cápsulas de gel, o bien, en forma líquida como (f) solución, (g) gotas, (h) una suspensión o (i) gel.
- 50 13. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la isomerasa de glucosa se formula como un polvo.
- 55 14. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 12, en donde el recubrimiento de las cápsulas, tabletas, píldoras, gránulos, micro o mini-comprimidos y grageas se selecciona de fetalato de acetato de celulosa, derivados de celulosa, goma laca, polivinilpirrolidona, ácido acrílico, derivados del ácido poliacrílico y metacrilato de polimetilo.
- 60 15. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde la composición comprende iones de metal.
16. Isomerasa de glucosa para su uso según la reivindicación 15, en donde los iones metálicos se seleccionan de Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} o mezclas de los mismos.
17. Isomerasa de glucosa para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 en donde la isomerasa de glucosa es una isomerasa xilosa.