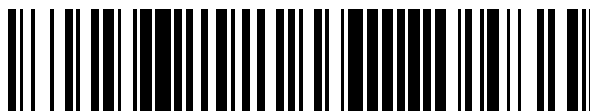


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 377**

51 Int. Cl.:

C12N 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.08.2006 E 06801583 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.09.2013 EP 1915441**

54 Título: **Método para eliminar subproductos tipo bisulfitos de composiciones enzimáticas**

30 Prioridad:

17.08.2005 US 205568

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

03.12.2013

73 Titular/es:

**COLGATE-PALMOLIVE COMPANY (100.0%)
300 Park Avenue
New York NY 10022-7499, US**

72 Inventor/es:

**BRAHMS, JOHN y
MASTERS, JAMES G.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 432 377 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

Método para eliminar subproductos tipo bisulfitos de composiciones enzimáticas

Antecedentes de la invención

5 En las formulaciones orales pueden incluirse varios tipos de enzimas para que actúen como agentes terapéuticos. Por ejemplo, pueden incluirse enzimas para hidrolizar los polisacáridos orales o para inhibir el crecimiento bacteriano. Más específicamente, por ejemplo, se informó que pueden emplearse enzimas tales como la mutanasa, la dextranasa, la papaína y la 1,3-glucanasa en formulaciones orales para separar depósitos de la placa.

10 En general, las enzimas son vulnerables por naturaleza a cambios en el entorno tales como pH, temperatura y concentración de iones, y por tanto es usualmente necesario tomar medidas para proteger a las enzimas para que mantengan su eficacia pretendida en el cuidado oral. Para mejorar la eficacia de las enzimas se han sugerido agentes estabilizantes de las enzimas, tales como agentes quelantes y agentes antioxidantes. Ejemplos de tales agentes estabilizantes son EDTA, gluconato de sodio, bisulfito de sodio, galatos metálicos, estannato de sodio y ácido ascórbico.

15 Sin embargo, entre los agentes estabilizantes de las enzimas, los materiales tipo bisulfito, es decir, los compuestos que contienen el ion bisulfito, han mostrado que son tóxicos para algunos individuos, y/o que con frecuencia alteran las propiedades organolépticas de una formulación para el cuidado oral. Por lo tanto, puede ser deseable separar o reducir los materiales tipo bisulfito en composiciones enzimáticas antes de que las composiciones sean procesadas adicionalmente y suministradas a los consumidores. Incluso si los materiales tipo bisulfito pueden separarse por medio de técnicas convencionales tales como extracción con bases y neutralización mediante un agente oxidante, estas técnicas afectan con frecuencia adversamente a la actividad catalítica de las enzimas en composiciones orales. Así, es deseable introducir un método alternativo para separar los materiales tipo bisulfito que no afectan negativamente a la actividad de las enzimas en una composición a tratar. Hasta la fecha, no ha habido ningún método conveniente para separar los materiales tipo bisulfito de composiciones enzimáticas, método que pueda llevarse a cabo en condiciones neutras, no oxidantes.

25 El documento US 4.196.175 describe un procedimiento para separar una sal de bisulfito de una disolución acuosa por quimiosorción.

Breve resumen de la invención

30 Según la presente invención, se proporciona un método según la reivindicación 1 para separar materiales tipo bisulfito de una composición que comprende materiales tipo bisulfito y una o más enzimas. El método comprende: (a) poner en contacto la composición con un compuesto que contenga al menos un grupo funcional aldehído para formar un complejo aldehído-bisulfito, en el que el compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído es un aldehído monofuncional que tiene un bajo peso molecular de menos que 1000 Daltons; y (b) separar el complejo aldehído-bisulfito de la composición; en el que el aldehído monofuncional es un azúcar tipo aldosa.

35 En una realización, el método comprende poner en contacto la composición con un compuesto que contenga al menos un grupo funcional aldehído, tal como un azúcar tipo aldosa, para formar un complejo aldehído-bisulfito y separar el complejo aldehído-bisulfito de la composición, en el que la enzima se selecciona del grupo que consiste en papaína, bromelaína, una serina proteasa, quimiotripsina, ficina, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa, lactosa peroxidasa, lactoferrina, lisozima, enzimas lipolíticas, alcalasa, una carbohidrasa, una glucoamilasa, una dextranasa, una mutasa, una tannasa y una lipasa.

40 En otra realización, se proporciona un método según la reivindicación 9 para separar materiales tipo bisulfito de una composición que comprende materiales tipo bisulfito y una enzima. El método comprende: (a) poner en contacto la composición con una matriz que tiene al menos un aldehído monofuncional que tiene un bajo peso molecular de menos que 1000 Daltons, para formar un complejo aldehído-bisulfito; y (b) separar de la composición el bisulfito enlazado a la matriz; en el que el aldehído es un azúcar tipo aldosa.

45 Las características preferidas se definen en las reivindicaciones dependientes.

Descripción detallada de la invención

50 La presente invención se refiere a un método para separar un material tipo bisulfito de una composición que contiene una o más enzimas. Más particularmente, la invención se refiere a un método para separar el ion bisulfito poniendo en contacto la composición enzimática con un compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído para formar un complejo aldehído-bisulfito y separar el complejo de bisulfito de la composición. También se describe en la presente memoria una composición enzimática exenta de bisulfito que se prepara poniendo en contacto la composición enzimática con un compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído para formar un complejo aldehído-bisulfito y separar el complejo de bisulfito de la composición.

La presente invención proporciona un método para separar materiales tipo bisulfito de una composición enzimática empleando un compuesto que tiene al menos un grupo funcional aldehído que forma un complejo con el material tipo bisulfito y separar el complejo aldehído-bisulfito de la composición. Preferiblemente, el procedimiento se lleva a cabo en condiciones no oxidantes sustancialmente neutras, obteniendo de este modo una composición sustancialmente exenta de bisulfitos que contiene enzimas que no experimentan sustancialmente degradación. El término “degradación” usado en la presente memoria denota disminución de la actividad enzimática relativa a una composición enzimática de la cual no ha sido extraído el material tipo bisulfito. Preferiblemente, según la presente invención se retiene más que 50% de la actividad enzimática, más que 80% o más que 90% después de la etapa de poner en contacto el bisulfito con un aldehído, y seguidamente la etapa de separar el complejo bisulfito-aldehído, o después de ambas etapas.

La expresión “materiales tipo bisulfito” quiere decir compuestos que contengan el ion bisulfito químicamente enlazado o como un componente de un complejo químico, tal como bisulfito de sodio u otras sales de bisulfito.

Para separar el bisulfito de una composición enzimática, la presente invención emplea un compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído. Un “aldehído” se define como una especie de compuesto carbonilo que tiene la estructura R-CHO, en la que el grupo R puede ser un grupo aromático o alifático. Para obtener una composición sustancialmente exenta de bisulfito que contenga enzimas no sustancialmente degradadas, puede ser deseable seleccionar un aldehído que sea capaz de formar un complejo con material tipo bisulfito en condiciones neutras no oxidantes. Un aldehído de la presente invención es un aldehído monofuncional que tiene un bajo peso molecular de menos que 1000 Daltons. Según la presente invención, el aldehído es un azúcar tipo aldosa.

Una composición sustancialmente exenta de bisulfito se obtiene separando el complejo bisulfito-aldehído de la composición. Tal separación puede conseguirse por cualquier técnica de separación conocida en la técnica tal como un método químico o físico, o una combinación de métodos químicos y físicos. Ejemplos de técnicas de separación adaptables a la presente invención incluyen, pero no se limitan a, filtración, difusión diferencial, separación mediante columnas y separación mediante perlas, y separación por localización o secuestro.

Adicionalmente, la separación puede conseguirse sometiendo la composición a un objeto o artículo al cual está unido el aldehído, formando el complejo, y separar el objeto o artículo al cual está ahora unido el complejo aldehído-bisulfito. Alternativamente, con el fin de obtener una composición con enzimas sustancialmente no degradadas, puede ser deseable mantener condiciones no oxidantes sustancialmente neutras a través de las etapas de poner en contacto el material bisulfito y la composición enzimática y seguidamente separar el complejo aldehído-bisulfito. Por ejemplo, el pH de la disolución enzimática puede mantenerse dentro de un intervalo de 5 a 8, y la fuerza iónica se mantiene.

Un método de separar bisulfito según la presente invención puede ser aplicable a una composición que contenga cualquier tipo de enzima. Ventajosamente, la presente invención puede utilizarse para tratar una composición enzimática la cual es finalmente para el fin de entrar en contacto la piel o la membrana de la mucosa de un ser humano o animal. Por ejemplo, la composición enzimática puede ser una cualquiera que puede incorporarse en un producto para el cuidado oral o personal. Ejemplos de tales enzimas incluyen, pero no se limitan a, carbohidrasas tales como glucoamilasa, enzimas extraídas de productos frutícolas naturales tales como proteasas, carbohidrasas tales como alfa-amilasa, beta-amilasa y tannasa, y lipasas tales como lipasa de plantas, lipasa gástrica y lipasa pancreática. Preferiblemente, una enzima en una composición a ser tratada mediante la presente invención puede derivarse de una fuente botánica. Enzimas útiles en la práctica de la presente invención pueden seleccionarse del grupo que consiste en alfa y beta-amilasa, dextranasa, mutanasa, las enzimas que se encuentran en la naturaleza tales como papaína (de papaya), y bromelaína (de piña), serina proteasas tales como quimiotripsina, ficina, alcalasa, lisozima, pectinasa y glucanasa.

Según una realización de la presente invención, se proporciona un método que emplea una matriz que contiene al menos un grupo funcional aldehído para realizar la separación de un complejo bisulfito-aldehído conveniente. El método que usa una matriz que contiene al menos un grupo funcional aldehído puede ser operable en las mismas condiciones que los métodos de separación de bisulfito sin usar una matriz. Una matriz con un grupo funcional aldehído puede ser una convencional, por ejemplo, seleccionada del grupo que consiste en perlas porosas y no porosas, películas, granos y partículas. En otra realización, una matriz que contiene al menos un grupo funcional aldehído puede estar dispersada sobre un soporte para ayudar a separar un complejo bisulfito-aldehído. Cualquier tipo de soporte conocido en la técnica puede usarse para la invención. Ejemplos de soporte incluyen, pero no se limitan a, una columna, un recipiente, un filtro, una esponja y un gel.

También se describe en la presente memoria una composición enzimática sustancialmente desprovista de material tipo bisulfito, la cual se prepara mediante un método de separación del material tipo bisulfito según la presente invención, donde la composición enzimática se produce poniendo en contacto la composición con un compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído para formar un complejo aldehído-bisulfito y separar el complejo aldehído-bisulfito de la composición. Puesto que una composición enzimática de la presente invención se prepara en condiciones neutras no oxidantes, la actividad de las enzimas en la composición no es sustancialmente degradada. Preferiblemente, aproximadamente 90% de la actividad de la enzima permanece sin degradar. La composición

enzimática producida por el método de la presente invención está sustancialmente exenta de material tipo bisulfito y, por consiguiente, puede usarse ventajosamente en productos para el cuidado oral o personal, tales como dentífricos, productos para el cuidado de la piel y productos para el cuidado del pelo y las uñas.

REIVINDICACIONES

1. Un método para separar un material tipo bisulfito de una composición que comprende material tipo bisulfito y una enzima, método que comprende:
 - 5 (a) poner en contacto la composición con un compuesto que contenga al menos un grupo funcional aldehído para formar un complejo aldehído-bisulfito, donde el compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído es un aldehído monofuncional que tiene un bajo peso molecular de menos que 1000 Daltons; y
 - (b) separar el complejo aldehído-bisulfito de la composición;donde el aldehído monofuncional es un azúcar tipo aldosa.
- 10 2. El método según la reivindicación 1, donde la separación se selecciona del grupo que consiste en filtración, difusión diferencial, separación mediante columnas y separación mediante perlas.
3. El método según la reivindicación 1, donde el compuesto que contiene al menos un grupo funcional aldehído está combinado con la composición en un intervalo de pH de 5 a 8.
4. El método según la reivindicación 1, donde la enzima no está sustancialmente degradada después de la etapa de formación del complejo aldehído-bisulfito.
- 15 5. El método según la reivindicación 1, donde la enzima no está sustancialmente degradada después de la etapa de separación del complejo aldehído-bisulfito.
6. El método según la reivindicación 1, donde la enzima es de una fuente botánica.
7. El método según la reivindicación 1, donde la enzima se selecciona del grupo que consiste en papaína, bromelaína, una serina proteasa, quimiotripsina, ficina, glucosa oxidasa, galactosa oxidasa, lactosa peroxidasa, lactoferrina, lisozima, enzimas lipolíticas, alcalasa, una carbohidrasa, una glucoamilasa, una dextranasa, una mutasa, una tannasa y una lipasa.
- 20 8. El método según la reivindicación 1, donde más que 90% de la actividad enzimática no está degradada después de la etapa de separación.
9. Un método para separar un material tipo bisulfito de una composición que contiene bisulfito y una enzima, método que comprende:
 - 25 (a) poner en contacto la composición con una matriz que tiene al menos un aldehído monofuncional que tiene un bajo peso molecular de menos que 1000 Daltons, para formar un complejo aldehído-bisulfito; y
 - (b) separar de la composición el bisulfito enlazado a la matriz;donde el aldehído es un azúcar tipo aldosa.
- 30 10. El método según la reivindicación 9, donde la matriz se selecciona de perlas porosas y no porosas, películas, granos y partículas.
11. El método según la reivindicación 9, donde la matriz está dispersada sobre un soporte.
12. El método según la reivindicación 11, donde el soporte se selecciona del grupo que consiste en una columna, un recipiente, un filtro, una esponja y un gel.