

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 471 877**

51 Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)

A61K 38/47 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.02.2011 E 11707070 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.03.2014 EP 2528611**

54 Título: **Una composición para usar en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa o condiciones resultantes de la deficiencia de lactasa**

30 Prioridad:

20.04.2010 EP 10004161
24.02.2010 US 338763 P
26.02.2010 DE 102010009582
15.02.2010 DE 102010008083
08.02.2010 DE 102010007289
08.02.2010 DE 102010007304
05.02.2010 DE 102010007142

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.06.2014

73 Titular/es:

VITACARE GMBH & CO. KG (100.0%)
Konrad-Adenauer-Allee 8-10
61118 Bad Vilbel, DE

72 Inventor/es:

WYROBNIK, DANIEL HENRY y
WYROBNIK, ISAAC HARRY

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 471 877 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

5 Una composición para usar en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa o condiciones resultantes de la deficiencia de lactasa

10 La materia objeto de la invención es un agente para uso en la administración a sujetos que sufren de intolerancia a la lactosa, que contiene la enzima lactasa (sin. tilactasa, tilactasum, beta-galactosidasa) en combinación con microorganismos. En el contexto de esta solicitud de patente, el término intolerancia a la lactosa se utiliza para referirse no sólo a la intolerancia a la lactosa y trastorno del metabolismo de la lactosa médicamente definido (la malabsorción de lactosa, mala digestión de la lactosa), sino a cualquier forma de daños a la salud y síntomas que se producen como resultado de la ingesta de lactosa o productos alimenticios que contengan lactosa, o debido a la liberación de la lactosa en el tracto digestivo de los seres humanos o animales de otras sustancias, tales como composiciones farmacéuticas.

15 Antecedentes de la invención

20 La lactosa es un disacárido y es un importante componente nutricional que suministra energía. Se presenta como un componente principalmente en leche y productos lácteos, pero también se usa por la industria de alimentos como edulcorante, agente de carga y mejorador de la consistencia, por ejemplo, en dulces, carnes procesadas, productos de panadería y comidas preparadas. Las composiciones farmacéuticas frecuentemente también contienen lactosa. En el cuerpo, la lactosa se escinde en los nutrientes utilizables glucosa y galactosa en el intestino delgado por la enzima lactasa endógena. Para los bebés, la lactosa contenida en la leche materna es un alimento muy importante.

25 La intolerancia a la lactosa es usualmente el resultado de la deficiencia de lactasa. Si se dispone de cantidades insuficientes de la enzima lactasa en el cuerpo (deficiencia de lactasa), la lactosa pasa en forma no escindida a las partes inferiores de los intestinos (intestino grueso), donde se fermenta por las bacterias intestinales, provocando, por ejemplo, que se produzcan gases y/o un aumento de la entrada de agua en el intestino grueso. Esto puede llevar a molestias tales como dolor de estómago, flatulencia, distensión abdominal o diarrea, después del consumo de productos lácteos. Esto se denomina como intolerancia a la lactosa (intolerancia al azúcar de leche). Debido a la similitud de las molestias, la intolerancia a la lactosa a menudo se confunde con el síndrome del intestino irritable (colon irritable, colon espástico).

30 Se reconocen generalmente tres formas diferentes de deficiencia de lactasa:

- 35
1. Deficiencia de lactasa primaria
 2. Deficiencia de lactasa secundaria
 - 40 3. Deficiencia de lactasa congénita

45 La cantidad de lactasa en el intestino delgado es más alta en los bebés durante el período de lactancia y luego disminuye de forma continua en la mayoría de las personas por razones genéticas. La llamada deficiencia de lactasa primaria resultante es por lo tanto el resultado de un proceso normal de envejecimiento y puede observarse en la gran mayoría (70% - 90%) de la población adulta mundial. Así, casi todos los grupos poblacionales en África y Asia no toleran la lactosa. Pero también en Alemania, alrededor del 15% de los adultos tienen una deficiencia de lactasa primaria. La intolerancia a la lactosa que resulta de la deficiencia de lactasa primaria se denomina entonces frecuentemente como intolerancia a la lactosa primaria.

50 Diversas enfermedades intestinales pueden conducir a la llamada deficiencia de lactasa secundaria (sin. deficiencia de lactasa adquirida), por ejemplo, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, enfermedad celíaca (esprúe endémicas) y otras inflamaciones intestinales (por ejemplo, debido a infecciones virales o bacterianas). Además, después de operaciones en el tracto intestinal, especialmente después de remover partes del intestino delgado, no es extraña la aparición de la deficiencia de lactasa secundaria. Esto se denomina como intolerancia a la lactosa secundaria o transitoria. La deficiencia de lactasa secundaria es usualmente reversible después que se ha curado la enfermedad intestinal que la provocó.

55 En la deficiencia de lactasa congénita que ocurre muy rara vez, el recién nacido carece del gen responsable de la producción de lactasa. Esto conduce a la incapacidad total del cuerpo para producir la enzima. En tales bebés se debe mantener una estricta nutrición sin lactosa.

60 En el sentido de esta solicitud de patente, el término deficiencia de lactasa se usa para referirse no sólo a la deficiencia de lactasa médicamente definido, sino a cualquier tipo de deficiencia de lactasa.

65 No todas las alteraciones del metabolismo de la lactosa conducen necesariamente a una severa intolerancia a la lactosa. Sin embargo, puede observarse además molestias en trastornos leves del metabolismo de la lactosa. Hasta ahora, sólo ha sido posible evitar las molestias mencionadas anteriormente manteniendo una dieta baja en lactosa o

- libre de lactosa o tomando preparaciones que contienen la enzima lactasa al comer alimentos que contienen lactosa. No es satisfactorio mantener una dieta baja en lactosa o libre de lactosa y, debido a los valiosos nutrientes y sustancias vitales contenidos en los productos lácteos, es además desfavorable desde un punto de vista fisiológico nutricional. La elección de productos lácteos libres de lactosa es limitada y, aparte de esto, tienen un sabor más dulce que los productos lácteos que contienen lactosa, debido a que durante la producción la lactosa ya se ha escindido por la adición de lactasa. A muchos consumidores no les gusta el sabor de estos productos. Adicionalmente, existen muchos alimentos en los cuales uno no esperaría que contuvieran lactosa. Esto significa que la compra de alimentos libres de lactosa frecuentemente provoca problemas. El uso oportuno de las preparaciones de lactasa representa una buena alternativa y frecuentemente mejora considerablemente la calidad de vida de los afectados. La cantidad de lactasa requerida de manera individual depende, por una parte, de la sensibilidad del usuario a la lactosa. Esto se determina fundamentalmente por la actividad residual de la lactasa endógena. Aparte de esto, la cantidad de lactasa requerida depende del tipo de alimento, la cantidad total de alimento consumido y la cantidad de lactosa que contiene. Se conoce que las preparaciones de lactasa no siempre son eficaces o igualmente eficaces en todas las personas afectadas.
- 5 Se ha propuesto una serie de productos para el uso en el tratamiento o alivio de los síntomas de la intolerancia a la lactosa o deficiencia de lactasa.
- RU 292125 describe combinaciones de extracto de manzana de la tierra (pataca), una lactasa y una base de leche fermentada que contiene *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*. El producto está destinado al consumo por personas que sufren de intolerancia a la lactosa o deficiencia de lactasa y el propósito de la lactasa parece ser reducir el contenido de lactosa de la base de leche. No hay sugerencia de que los dos microorganismos tienen algún efecto beneficioso sobre la intolerancia a la lactosa. Además, se considera que los dos microorganismos deben estar presentes en la relación 1:4 de *S. thermophilus*:*L. bulgaricus* con el fin de proporcionar el mejor sabor y consistencia.
- 20 DE2725731 (equivalente a US4034115) describe un procedimiento de cuatro etapas para la preparación de un producto lácteo fermentado que es bajo en lactosa y es por lo tanto adecuado para el consumo por personas que sufren de intolerancia a la lactosa. No tiene la intención de proporcionar un medio general de prevenir o tratar la intolerancia a la lactosa o los síntomas de la deficiencia de lactasa que puedan derivarse de la lactosa en otros tipos de alimentos. El procedimiento comprende una primera etapa de fermentación usando bacterias del ácido láctico (no *S. thermophilus* o *L. bulgaricus*) para dar una mantequilla de leche; una segunda etapa de fermentación usando bacterias del yogur tales como *S. thermophilus* o *L. bulgaricus*; una tercera etapa que implica la adición de una pequeña cantidad de calostro; y una cuarta etapa que implica la fermentación con *L. acidophilus* o *L. bifidus*.
- 25 WO2009/056979 (Danisco) describe entre otros productos lácteos (yogures) que contienen *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* y lactasa exógena. Los productos no están destinados a tratar o prevenir la intolerancia a la lactosa o deficiencia de lactasa aunque la página 11 línea 4 se refiere al uso conocido de lactasa en el tratamiento de la intolerancia a la lactosa.
- 30 WO2004/089290 (Pharmachem) describe la administración de productos de confitería masticables que contienen una combinación de microorganismos probióticos y lactasa para una persona intolerantes a la lactosa. La lista de microorganismos preferidos incluye el *S. thermophilus* pero no el *L. bulgaricus*. El propósito de la lactasa (ver página 16) parece ser eliminar cualquier lactosa presente en los productos de confitería. WO2004/089290 no contiene ejemplos de los productos de confitería que contienen lactasa y/o un microorganismo tal como *S. thermophilus* o *L. bulgaricus* y no existe una descripción en cuanto a la forma en la cual se presentan los microorganismos. En las páginas 2 y 3 de WO2004/089290, se sugiere que el uso de microorganismos liofilizados es problemático y en otros lugares en numerosos puntos se considera que los productos de confitería se preparan sin calentamiento y deshidratación, lo que sugiere de ese modo que los microorganismos no se usan en una forma seca.
- 35 US2008/0187525 (Porubcan) describe combinaciones de microorganismos probióticos y enzimas lactogénicas. Las enzimas lactogénicas (que incluyen lactasa) están destinadas a promover el crecimiento de los microorganismos probióticos. Las combinaciones (o sus componentes) pueden presentarse en forma de cápsula. Los microorganismos pueden estar en forma liofilizada. Las combinaciones específicas de lactasa con cualquiera de *S. thermophilus* o *L. bulgaricus* tampoco se describen o ejemplifican. Este documento no se relaciona con la profilaxis o el tratamiento de la intolerancia a la lactosa o la deficiencia de lactasa.
- 40 DE69505374 (=WO95/34292) describe microgránulos que contienen diversas sustancias bioactivas tales como lactasa y microorganismos, donde los microgránulos se recubren entéricamente. Los microgránulos recubiertos están destinados a incorporarse en alimentos como los productos lácteos. *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* se mencionan como ejemplos de microorganismos. La intolerancia a la lactosa se discute en la página 3 y se menciona la lactasa. Hay ejemplos de gránulos recubiertos que contienen lactasa y también hay ejemplos de gránulos recubiertos que contienen *L. acidophilus*. Sin embargo, no hay descripciones de la utilización de la lactasa y *S. thermophilus* o *L. bulgaricus* en conjunto y no hay ejemplos de gránulos recubiertos que contienen *S. thermophilus* o *L. bulgaricus*.
- 45 EP1112002 describe los polvos de leche para la administración a animales. Los polvos de leche contienen lactasa que se adiciona para prevenir los síntomas de intolerancia a la lactosa en los animales. Los polvos pueden contener además microorganismos probióticos (ver página 3). *S. thermophilus* se encuentra entre la lista de los microorganismos, pero *L.*
- 50
- 55
- 60
- 65

bulgaricus no está. Sin embargo, no hay ejemplos de polvos de leche que contienen microorganismos probióticos así como también la lactasa.

5 WO96/06924 (= DE 69535290) describe un proceso para producir un producto fermentado rico en galactooligosacáridos y β-galactosidasa (lactasa) mediante la fermentación de un medio que contiene *S. thermophilus*. En la página 12, se considera que los productos son tolerados por las personas que sufren de deficiencia de lactasa. No parece existir alguna descripción de la adición de lactasa exógena y no parece sugerirse que el producto puede usarse para prevenir o tratar la intolerancia a la lactosa o deficiencia de lactasa.

10 US2008/0213320 (Eisenstein Mayer) describe composiciones (que pueden ser *entre otras* tabletas o cápsulas) para el tratamiento de trastorno de reflujo gastroesofágico que contiene al menos dos de (1) una enzima digestiva, (2) un probiótico, y (3) stevia. La lactasa está en la lista de enzimas digestivas. *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* se enumeran entre los probióticos pero no se consideran como los preferidos. Se proporciona un ejemplo y este contiene lactasa así como también otras 7 enzimas digestivas pero además contiene 6 especies probióticas, que no incluyen *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*. No hay referencia al tratamiento o prevención de la intolerancia a la lactosa o deficiencia de lactasa.

15 US2009/110674 (Loizou Nicos) describe suplementos de alimentos naturales que contienen más de cincuenta diferentes componentes activos seleccionados de *entre otros* minerales, enzimas, vitaminas, extractos de plantas, probióticos seleccionados y aminoácidos. En la página 3, se describe una composición que contiene más de cincuenta ingredientes que incluyen lactasa (5 mg) y *Lactobacillus bulgaricus* (2.5mg que incluye *Bifidus*). En la página 12, se describe la lactasa como esencial para la hidrólisis de la lactosa en la leche y se considera que una deficiencia de la enzima provoca intolerancia a la lactosa. Las composiciones se describen como una panacea universal que abarca la salud general y no están dirigidos a cualquier estado o condición de una enfermedad.

20 US2008/0260708 se refiere a composiciones para "normalizar la química del cuerpo humano" y pretende ser una panacea universal para promover la buena salud. Las composiciones deben contener *entre otros* una enzima digestiva, fibra soluble e insoluble, un laxante, uno o más probióticos, proteasa, lipasa, varios minerales y varios extractos de hierba y plantas. Las composiciones no están específicamente dirigidas a prevenir o tratar la intolerancia a la lactosa o los síntomas de la deficiencia de lactasa. Las enzimas digestivas pueden incluir lactasa y las enzimas probióticas pueden incluir *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

25 US6008027 (Langner) describe cápsulas que contienen microorganismo que producen lactasa para el tratamiento de la deficiencia de lactasa. Aunque *L. bulgaricus* y *S. thermophilus* se mencionan, las composiciones ejemplificadas contienen sólo *L. acidophilus*. No hay ninguna descripción en US6008027 de la inclusión de lactasa exógena. Una característica esencial de las cápsulas Langner es que están recubiertas en un polímero entérico que previene la liberación en las condiciones ácidas del estómago pero que se descompone para liberar los microorganismos en los intestinos.

30 US6410018, US6428786, US6562338 y US6562339 (todas de Eisenhardt y *otros*) describen cada una composiciones para el tratamiento de intolerancia a la lactosa que comprenden una primera enzima lactasa que tiene un pH óptimo de trabajo en el intervalo de 3 a 6 y una segunda enzima lactasa que tiene un pH óptimo en el intervalo de 6 a 8. La segunda enzima lactasa tiene un recubrimiento entérico con el fin de prevenir la degradación prematura en el estómago. Ninguno de los documentos sugiere el uso de bacterias del ácido láctico en las composiciones, métodos y procesos descritos en los mismos.

35 Guarner y *otros* Brit. J. Nutrition, 93 (2005), 783-786 revelan que las bacterias del yogur *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* tienen una alta actividad de la lactasa y que el yogur mejora la digestión de la lactosa y elimina los síntomas de intolerancia a la lactosa. Sin embargo, no hay sugerencia en Guarner y *otros* de que pueda adicionarse lactasa exógena o de que hacerlo resultaría en algún beneficio.

40 Además, en Guarner y *otros* no se presentan evidencias que indiquen que consumir yogures que contienen *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* tendría algún efecto sobre la digestión de la lactosa en sujetos que absorben mal la lactosa que han consumido otros productos lácteos tales como leche sin fermentar y helados.

45 Aunque el consumo de yogur puede proporcionar beneficios generales a algunos que absorben mal la lactosa que disfrutan de consumir yogur, a muchas personas no les gusta el sabor y la textura del yogur. Por consiguiente, el yogur que contiene cultivos vivos de bacterias tales como *S. thermophilus* y *L. bulgaricus* no proporciona una solución general al problema de la malabsorción de lactosa y la intolerancia a la lactosa.

50 Guarner y *otros* (ver anteriormente) recalcan la importancia del uso de cultivos vivos con el fin de producir efectos beneficiosos. Si el yogur se trata con calor, los beneficios se pierden. Guarner y *otros* no proporcionan evidencia que sugieran que la administración de bacterias inactivas (por ejemplo bacterias liofilizadas) en un medio no lácteo proporcionaría algún beneficio a los enfermos de intolerancia a la lactosa. De acuerdo con la descripción en WO2004/089290 (Pharmachem), que trata el tema de la intolerancia a la lactosa, no es deseable el uso de bacterias deshidratadas. Por ejemplo, en la página 2 de WO2004/089290, se considera que "*Organismos probióticos liofilizados, es decir secados por congelación, además están disponibles. Las bacterias liofilizadas están en un estado abiótico. La*

necesidad de humedecer el microorganismo antes de la administración, con el fin de restablecer la vitalidad, es una desventaja ya que muchas bacterias no sobreviven a la rehidratación. Además, los organismos sobrevivientes, si los hay, no son metabólicamente activos de manera inmediata, y no puede sobrevivir a las condiciones ácidas extremas del estómago". Así, de acuerdo con WO2004/089290, el uso de bacterias secas no ofrece un camino a seguir.

Hove y otros, Amer. J. Clin. Nutr, 1994, 59: 74-79, describen experimentos llevados a cabo en sujetos que sufren de malabsorción de lactosa en los que se le dio a los sujetos cápsulas que contienen bacterias del ácido láctico liofilizadas mezcladas que contienen *B. bifidum*, *L. acidophilus*, *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*. Hove y otros concluyeron que las cápsulas que contienen las bacterias del ácido láctico liofilizadas no alivian los síntomas de malabsorción de lactosa (es decir calambres abdominales, diarrea y "meteorismos") y no mejoran la hidrólisis de la lactosa en el intestino delgado en sujetos con malabsorción de lactosa.

Por lo tanto, en vista de las descripciones descritas anteriormente, existe una necesidad de un producto eficaz que permita a los sujetos intolerantes a la lactosa consumir productos alimenticios que contienen lactosa - distintos de los yogures que contienen bacterias vivas que se toleran mejor por algunos de los enfermos - sin sufrir los síntomas asociados usualmente con la intolerancia a la lactosa.

Así, un agente con un efecto más fiable y/o mejor que el de las preparaciones que contienen solamente la enzima lactasa satisfaría así una necesidad urgente que existe para las muchas personas afectadas y significaría una mejora considerable y un gran paso adelante en las opciones nutricionales disponibles en el caso de la intolerancia a la lactosa.

Resumen de la invención

Un objetivo de la presente invención es proporcionar un agente más eficaz para el uso en el tratamiento o la prevención de los síntomas de la intolerancia a la lactosa y deficiencia de lactasa, y para permitir a un sujeto consumir alimentos que contienen lactosa aun si el sujeto sufre de intolerancia a la lactosa. Además, es un objetivo de la invención hacer posible que los afectados por la intolerancia a la lactosa coman los productos alimenticios que no se les permitía comer hasta ahora, debido a su contenido de lactosa. Además, el objetivo es proporcionar un agente que pueda prevenir, reducir o eliminar la aparición de los síntomas de intolerancia a la lactosa después de la ingesta de alimentos que contienen lactosa o sustancias que contienen lactosa.

Los presentes inventores han encontrado que la administración de las bacterias *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* en forma seca a sujetos que sufren de malabsorción de lactosa no produce una mejora estadísticamente significativa en la digestión de la lactosa. Este hallazgo es consistente con las enseñanzas en WO2004/089290 y en Hove y otros discutidos anteriormente.

Sin embargo, los presentes inventores han encontrado además que las composiciones que contienen combinaciones de lactasa y *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* en una forma seca sin recubrimiento, cuando se administran a sujetos que sufren de malabsorción de lactosa, son considerablemente más eficaces y fiables para mejorar la digestión de la lactosa, y ejercen sus propiedades beneficiosas en una variedad más amplia de sujetos, que las composiciones que contienen solamente lactasa.

Así, contrariamente a lo que se sugiere en la técnica anterior discutido anteriormente, y particularmente en US6008027 (Langner) y WO2004/089290 (Pharmachem), una composición no láctea que contiene una combinación de lactasa y las bacterias *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* en una forma seca sin recubrimiento puede proporcionar un medio eficaz para mejorar la digestión de la lactosa en sujetos que absorben mal la lactosa.

Así, la presente invención proporciona un agente eficaz para permitir a las personas que sufren de intolerancia a la lactosa consumir productos alimenticios que contienen lactosa sin sufrir los síntomas de la intolerancia a la lactosa.

En consecuencia, en una primera modalidad (Modalidad 1.1), la invención proporciona una composición para el uso en la terapia de la intolerancia a la lactosa o de condiciones resultantes de la deficiencia de lactasa, en donde la composición es una forma de dosificación sólida no láctea que comprende:

- (a) una lactasa la cual es estable y activa en un intervalo de pH de 3 a 6; el término estable significa que la lactasa (a) todavía tiene al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C a un pH en el intervalo de 3 a 6; y
- (b) uno o más microorganismos que producen lactasa y/o que contienen lactasa seleccionados de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; en donde la lactasa (a) es distinta de una lactasa derivada de dichos uno o más microorganismos (b); y en donde el uno o más microorganismos que producen lactasa y/o que contienen lactasa (b) están en forma seca.

En modalidades adicionales la invención proporciona:

- 1.2 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.1 en donde la forma de dosificación es distinta a una cápsula recubierta con un recubrimiento entérico.

- 1.3 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.1 en donde los organismos que producen lactasa o que contienen lactasa no se recubren entéricamente.
- 5 1.4 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.3 en donde la lactasa (a) es una que todavía tiene al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C a un pH en el intervalo de 4 a 6.
- 1.5 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.3 en donde la lactasa (a) exhibe actividad pico a un pH en el intervalo de 3 a 6.
- 10 1.6 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.3 en donde la lactasa (a) exhibe actividad pico a un pH en el intervalo de 4 a 6.
- 1.7 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.8 en donde la lactasa (a) se deriva de un microorganismo, y la composición está sustancialmente libre del microorganismo del cual se deriva la lactasa.
- 15 1.8 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.7 la cual contiene *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
- 20 1.9 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.8 en donde la forma de dosificación sólida se selecciona de cápsulas, tabletas, grageas, polvos, comprimidos y gránulos.
- 1.10 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.9 la cual está en forma de dosificación unitaria.
- 25 1.11 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.10 en donde la forma de dosificación unitaria se selecciona de cápsulas, tabletas, grageas y sobres que contienen un polvo, comprimidos o gránulos.
- 30 1.12 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.11 en donde la forma de dosificación unitaria se selecciona de cápsulas, tabletas y grageas.
- 1.13 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.12 en donde la forma de dosificación unitaria es una cápsula.
- 35 1.14 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.13 que contiene entre 2000 y 12000 unidades FCC de la lactasa (a).
- 1.15 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.14 que contiene entre 2000 y 6000 unidades FCC de la lactasa (a).
- 40 1.16 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.15 que contiene entre de 50 millones a 10 billones de unidades formadoras de colonia de *Lactobacillus bulgaricus* y de 50 millones a 10 billones de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus thermophilus*.
- 45 1.17 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.16 que contiene de 100 millones a 2 billones de unidades formadoras de colonia de *Lactobacillus bulgaricus* y de 100 millones a 2 billones de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus thermophilus*.
- 50 1.18 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.17 la cual está sustancialmente libre de lactosa.
- 1.19 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.18 en donde el *Lactobacillus bulgaricus* es *Lactobacillus delbrueckii* LB-VC18 (número de depósito: DSM 23320).
- 55 1.20 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.19 en donde el *Streptococcus thermophilus* es *Streptococcus thermophilus* ST-VC18 (número de depósito: DSM 23319).
- 1.21 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.20 en donde la lactasa (a) se deriva de una especie *Aspergillus*.
- 60 1.22 Una composición para el uso de acuerdo con la Modalidad 1.21 en donde la lactasa (a) se deriva de *Aspergillus oryzae* o *Aspergillus niger*.
- 1.23 Una composición de acuerdo con la modalidad 1.22 en donde la lactasa (a) se deriva de *Aspergillus oryzae*.
- 65 1.24 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.23 en donde la

composición es distinta de una composición que contiene una combinación de dos o más extractos de hierba adicionados junto con lipasa exógena y proteasa exógena.

5 1.25 Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.24 en donde la composición contiene (c) un excipiente o portador dietética y farmacéuticamente aceptable.

10 1.26 Una forma de dosificación sólida seleccionada de cápsulas, tabletas, grageas, polvos, comprimidos y gránulos que no está recubierta por un recubrimiento entérico y que contiene (a) una lactasa que es estable y activa en un intervalo de pH de 3 a 6; el término estable significa que la lactasa (a) tiene todavía al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C a un pH en el intervalo de 3 a 6; y (b) uno o más microorganismos que producen lactasa o que contienen lactasa seleccionados de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; en donde (a) y (b) son como se definen en cualquiera de las Modalidades 1.1 a 1.26; siempre y cuando la composición sea distinta de una composición que contiene en conjunto dos o más extractos de hierba adicionados junto con lipasa exógena y proteasa exógena.

15 1.27 Una forma de dosificación sólida 1.26 la cual se selecciona de cápsulas, tabletas y grageas.

20 1.28 Una forma de dosificación sólida 1.26 que se selecciona de polvos, comprimidos y gránulos y en donde dichos polvos, comprimidos y gránulos están contenidos en un sobre.

1.29 Una forma de dosificación sólida 1.27 la cual es una cápsula.

1.30 Una forma de dosificación sólida 1.27 la cual es una tableta.

25 1.31 Una forma de dosificación sólida 1.27 la cual es una gragea.

Modalidades y aspectos adicionales de la invención

30 Las modalidades y aspectos adicionales de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción y los ejemplos.

35 La materia objeto de la invención es un agente que puede resolver los problemas descritos anteriormente en la sección introductoria de esta solicitud. El agente contiene la enzima lactasa en combinación con microorganismos. Los microorganismos en cuestión son las bacterias del ácido láctico y particularmente preferentemente *Lactobacillus delbrueckii* subespecie *bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*. Una lactasa en el sentido de esta invención es una enzima que es capaz de convertir (escindir) la lactosa en glucosa y galactosa. Las bacterias del ácido láctico en el sentido de esta invención son particularmente microorganismos que, por medio de su propia lactasa microbiana, pueden metabolizar la lactosa y/o a partir de los que puede liberarse lactasa en el tracto digestivo de seres humanos o animales. Los microorganismos que se usan de acuerdo con la presente invención preferentemente pueden liofilizarse o secarse por aspersión (preferentemente liofilizarse), con el fin de proporcionar una mayor vida en estante y una buena capacidad de procesamiento.

40 Siempre que se use *Lactobacillus bulgaricus* más abajo, este se refiere a *Lactobacillus delbrueckii* subespecie (subesp.) *bulgaricus*.

45 El agente de acuerdo con la presente invención puede provocar la escisión de la lactosa en el alimento o en la pulpa de alimento en glucosa y galactosa después del consumo. Esto significa que la lactosa ya no está disponible para el metabolismo bacteriano caracterizado por la fermentación en los intestinos.

50 La materia objeto de la invención es por lo tanto un agente que, con la ayuda de lactasa en combinación con microorganismos tal como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente, reduce la biodisponibilidad de la lactosa en el cuerpo humano o animal.

55 La materia objeto de la invención es además un agente que, con la ayuda de lactasa en combinación con microorganismos tal como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente, reduce la cantidad de lactosa disponible para el cuerpo humano o animal o para las bacterias intestinales colonizadas en el mismo.

60 La materia objeto de la invención es además un agente para el uso en el caso de la intolerancia a la lactosa que contiene lactasa en combinación con microorganismos como se define en las reivindicaciones adjuntas a la presente.

65 La lactasa es una enzima que tiene la propiedad de convertir la lactosa en glucosa y galactosa. Mientras que la lactosa no se absorbe en el intestino delgado, la glucosa y la galactosa son monosacáridos que son fácilmente digeribles y se absorben rápidamente. Las lactasas usadas actualmente en las preparaciones de lactasa destinadas para el uso por vía oral se llaman lactasas ácidas (a veces se denominan lactasas agrias) que se producen en su mayoría usando *Aspergillus oryzae*. La lactasa ácida es muy eficaz en el medio ácido del estómago después del consumo de alimentos. La lactasa ácida es estable y activa a un pH de alrededor de 3 - 6. En el sentido de esta solicitud, el término "estable"

significa que la lactasa ácida todavía tiene al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C y valores de pH de 3 - 6. La referencia al 30% de su actividad en el presente contexto se refiere a la actividad residual de la enzima si, después del período especificado de una hora, se prueba de acuerdo con el ensayo de la lactasa ácida como se describe en la sexta edición del Food Chemical Codex (FCC).

A un valor de pH de más de 6.5, como se encuentra en el intestino delgado, la lactasa ácida es estable pero ya no muy activa. Por lo tanto, la lactasa ácida ya no puede desarrollar un efecto satisfactorio en el intestino delgado. En la actualidad, las preparaciones de lactasa por lo tanto tienen que contener tanta lactasa como sea necesaria para escindir las cantidades de lactosa que usualmente se consumen con los alimentos tanto como sea posible en el estómago. No se conoce o no está disponible comercialmente una lactasa que sea estable y activa a valores de pH bajos y que sea eficaz en el medio ácido del estómago y en el intestino delgado. Ya que el tiempo de tránsito gástrico varía mucho en dependencia del alimento consumido y de la cantidad de alimento consumido, la dosificación correcta de las preparaciones de lactasa es frecuentemente un problema para el usuario y por consiguiente, como se describió anteriormente, frecuentemente los usuarios están insatisfechos con el efecto de estos productos. Un aumento en la actividad de la lactasa por unidad de dosis puede ser útil, pero se ha encontrado que el aumento del efecto y la fiabilidad del efecto no aumentan proporcionalmente a la actividad de la lactasa por unidad de dosis. El momento de la ingesta es además crítico, ya que la lactasa ácida se inactiva rápidamente en el valor de pH muy bajo (entre 1 y 2.5) que prevalece en el estómago vacío. Así, si un usuario consume una preparación de lactasa demasiado tiempo (por ejemplo 10 minutos) antes de una comida con el estómago vacío, es posible que la enzima ya haya perdido irreversiblemente su actividad en el momento de la ingesta de alimentos y después ya no está disponible para la escisión deseada de la lactosa, de manera que en este caso la actividad de la lactasa por unidad de dosis no juega un papel.

Ciertas bacterias del ácido láctico contienen una lactasa que es activa y estable en los valores de pH que prevalecen en el intestino delgado. La lactasa de bacterias del ácido láctico, protegida por la envoltura bacteriana, puede al menos parcialmente (o en cierta medida) pasar a través del estómago hacia el intestino delgado, donde dos efectos ventajosos pueden entrar en juego. Por un lado, la lactasa microbiana puede liberarse cuando la envoltura bacteriana es destruida por los jugos digestivos en el intestino delgado, de manera que la lactosa que aún no se ha escindido en el estómago por la lactasa ácida se escinde después por esta lactasa liberada por las bacterias del ácido láctico. Por otro lado, las bacterias que permanecen intactas pueden metabolizar la lactosa y así contribuir además a una reducción adicional de la cantidad de lactosa en el intestino delgado. Algunas personas afectadas por la intolerancia a la lactosa tienen una mejor tolerancia a los productos lácteos fermentados en lugar de los productos lácteos no fermentados, lo que en parte se debe al contenido de lactasa de las bacterias del ácido láctico. Sin embargo, la mayoría de los afectados no puede consumir productos lácteos fermentados sin problemas. En estudios en los que se administraron bacterias del ácido láctico a personas con intolerancia a la lactosa, se demostró que no tienen una eficacia buena y fiable en relación con la digestión de la lactosa. Este resultado se ha demostrado para un gran número de cepas diferentes, además cuando se usan en una amplia variedad de combinaciones diferentes. Por lo tanto, en el caso de la intolerancia a la lactosa, no tiene sentido el uso de una preparación que contiene exclusivamente bacterias del ácido láctico (ver por ejemplo Hove y otros como se mencionó anteriormente). Considerando que hoy en día frecuentemente se hace el intento de adicionar bacterias del ácido láctico a productos lácteos y otros alimentos, que llegan intactas al intestino grueso con el fin de ejercer allí efectos ventajosos sobre la salud, en la invención que aquí se presenta se prefiere que el mayor número posible de las bacterias del ácido láctico que se consumen se destruyan en el intestino delgado, de manera que su lactasa microbiana se libere allí, de manera que esté después disponible para la escisión de la lactosa. Mediante la adición de tales bacterias del ácido láctico, puede aumentarse la eficacia y/o la fiabilidad de las preparaciones de lactasa. Tal preparación es capaz, por una parte, de escindir la lactosa en el estómago (a través de la lactasa ácida) y, por la otra, de escindir en el intestino delgado la lactosa que no se escinde en el estómago (por medio de la lactasa de bacterias del ácido láctico). Así, mediante la adición de bacterias del ácido láctico como se define en las reivindicaciones, se logra un efecto prolongado de la preparación, lo que conduce a una mayor eficacia y/o fiabilidad del efecto, que no puede lograrse puramente por el aumento de la actividad de la lactasa por unidad de dosis o al menos no puede lograrse de manera rentable. Adicionalmente a la enzima lactasa, es así ventajoso adicionar tales microorganismos al agente de acuerdo con la presente invención, que liberan su propia lactasa suficientemente activa y estable en el intestino delgado y/o metabolizan la lactosa en el intestino delgado. Se ha encontrado que las bacterias del ácido láctico *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* son particularmente adecuadas para esta solicitud, ya que estos microorganismos predominantemente, sino al menos parcialmente, sobreviven al estómago con una envoltura bacteriana intacta que protege la lactasa microbiana, pero predominantemente, sino al menos parcialmente, no sobreviven intactas en el intestino delgado y así liberan allí su lactasa microbiana en una medida relevante.

Tal agente combinado puede aplicarse en la forma de dos unidades de dosis separadas, por ejemplo en dos tabletas o cápsulas separadas, de las cuales una contiene la enzima lactasa y la otra las bacterias del ácido láctico.

Los productos alimenticios en el sentido de esta invención son los productos alimenticios en el sentido del Reglamento (EC) núm. 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo del 28 de enero de 2002. Los productos alimenticios en el sentido de esta invención incluyen particularmente productos alimenticios de usos nutricionales particulares, alimentos para propósitos médicos especiales, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos y aditivos alimentarios.

Los suplementos alimenticios en el sentido de esta invención son los suplementos alimenticios en el sentido de la

Directiva 2002/46/EC del Parlamento Europeo y del Consejo del 10 de junio de 2002.

Los productos alimenticios para usos nutricionales especiales en el sentido de esta invención son los productos alimenticios para usos nutricionales especiales en el sentido de la Directiva 2009/39/EC del Parlamento Europeo y del Consejo del 6 de mayo de 2009 sobre los productos alimenticios destinados a usos nutricionales particulares.

Los alimentos para propósitos médicos especiales en el sentido de esta invención son los alimentos para propósitos médicos especiales en el sentido de la Directiva 1999/21/EC de la Comisión del 25 de marzo de 1999 sobre alimentos dietéticos para propósitos médicos especiales.

Esta invención proporciona la enzima lactasa en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* para el uso en medicina, por ejemplo como una composición farmacéutica. La materia objeto de la invención es además en consecuencia un producto que consiste de lactasa en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* o que contiene estas sustancias junto con uno o más de otros ingredientes activos, para el uso en un procedimiento médico, particularmente un procedimiento para el tratamiento terapéutico del cuerpo humano o animal.

La materia objeto de la invención es además una composición para el uso en medicina, que contiene una lactasa y uno o más microorganismos que producen lactasa y/o que contienen lactasa, seleccionados de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, de manera que la lactasa preferentemente no se origina a partir del(de los) microorganismo(s) mencionado(s) anteriormente. En el sentido de esta invención, una composición farmacéutica es un producto en el sentido de la Directiva 2001/83 EC en la versión de la Directiva 2004/27 EC.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un producto alimenticio que contiene lactasa en combinación con bacterias del ácido láctico, particularmente en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*. Además, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un producto alimenticio que contiene lactasa en combinación con bacterias del ácido láctico, particularmente en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*, en una cantidad eficaz para convertir la lactosa en glucosa y galactosa.

Un producto alimenticio puede producirse además usando un procedimiento en el que la lactasa en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* se adiciona al producto alimenticio de tal manera en la que el efecto de la lactasa y las bacterias del ácido láctico comienza predominantemente después del consumo del producto alimenticio. Tal producto alimenticio sabe prácticamente como un producto alimenticio no tratado y, como un resultado del contenido reducido en lactosa que se produce después del consumo, es adecuado para el consumo en el caso de la intolerancia a la lactosa. Predominantemente en el sentido de esta solicitud significa que al menos 50% del efecto de escisión de la lactosa de la enzima y de las bacterias del ácido láctico se produce después del consumo del producto alimenticio. Alternativamente, (a) al menos 90%, (b) al menos 80%, (c) al menos 70% o (d) al menos 60% del efecto puede producirse después del consumo del producto alimenticio.

De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un dispositivo médico que contiene lactasa en combinación con las bacterias del ácido láctico *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*. La materia objeto de la invención es además en consecuencia un dispositivo médico que contiene lactasa en combinación con las bacterias del ácido láctico *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*, o que la contiene junto a uno o más de otros ingredientes activos.

Un dispositivo médico en el sentido de esta solicitud de patente es un dispositivo médico en el sentido de la Directiva 93/42/EEC en la versión modificada por la Directiva 2007/47/EC.

Los diversos aspectos de la invención se describen además más abajo. Siempre que se hace referencia más abajo a un agente, este siempre significa además un producto alimenticio, dispositivo médico o composición farmacéutica.

La lactasa, específicamente la lactasa ácida, más específicamente la lactasa ácida derivada de *Aspergillus* spp, aun más específicamente la lactasa ácida derivada de *Aspergillus oryzae*, no se ha usado aún en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* en el campo médico-farmacéutico, particularmente en el caso de la intolerancia a la lactosa en los seres humanos o animales. Por consiguiente, la invención que aquí se presenta es la primera indicación médica para la combinación de estas sustancias.

Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden tomarse por vía oral antes de las comidas, con las comidas o después de las comidas, de manera que puedan ejercer su efecto de escisión sobre la lactosa en la pulpa de alimento. Preferentemente, los agentes de acuerdo con la presente invención se toman justo antes de las comidas, durante las comidas o inmediatamente después de las comidas. Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden contener la enzima y las bacterias del ácido láctico sin aditivos adicionales. Sin embargo, es preferible que los agentes de acuerdo con la presente invención contengan además aditivos que son farmacéuticamente aceptables y/o aceptables para productos alimenticios, tales como diluyentes, aglutinantes, estabilizantes, conservantes, aromatizantes, etc. Tales aditivos se usan comúnmente y son bien conocidos para la producción de composiciones farmacéuticas, dispositivos médicos, productos alimenticios, productos alimenticios para usos nutricionales particulares,

alimentos para propósitos médicos especiales, suplementos alimenticios, suplementos dietéticos y aditivos alimentarios, y el especialista en este campo conoce que aditivos y en que cantidades son adecuados para formas de presentación particulares. Particularmente preferentemente, los agentes de acuerdo con la presente invención contienen como aditivos fosfato dicálcico, almidón modificado, celulosa microcristalina, maltodextrina y/o Fibersol.

5

Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden adicionarse además a un producto alimenticio antes de su consumo. Incluso pueden adicionarse al producto alimenticio en la etapa de producción, con el objetivo de desarrollar su efecto al menos parcialmente pero preferentemente predominantemente después de consumir el producto alimenticio. Esto puede lograrse mediante microencapsulado, por ejemplo. De esta manera, el contenido de lactosa utilizable del producto alimenticio se reduciría de una manera particularmente ventajosa. Por lo tanto, se prefieren las preparaciones que contienen lactasa en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* que predominantemente no liberan estas sustancias hasta que entran en el tracto digestivo de un ser humano o animal especialmente en el estómago o el intestino delgado. Por lo tanto, la invención puede usarse por ejemplo en la producción de leche y productos lácteos, tales como cuajada, yogur, crema, queso, pudín, bebidas de leche, bebidas mezcladas de leche y helados, y en la producción de, por ejemplo chocolate y productos de chocolate, productos de panadería (por ejemplo galletas y pasteles), panes, dulces, bebidas que contienen lactosa, salsas que contienen lactosa (por ejemplo salsas de crema) y edulcorantes que contienen lactosa. Para los platos que se hierven, hornean o fríen, los agentes de acuerdo con la presente invención pueden, por ejemplo mezclarse en o rociarse sobre ellos después de su enfriamiento. En cuanto a la leche y los productos lácteos se refiere, de acuerdo con la presente invención contienen lactasa ácida y al menos uno de los microorganismos seleccionados de *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.

10

15

20

Los agentes de acuerdo con la presente invención pueden adicionarse además a un producto alimenticio con el fin de ejercer su efecto después del consumo sobre la lactosa procedente de otro producto alimenticio. Un ejemplo de esto sería la adición de los agentes de acuerdo con la presente invención a los cereales, de manera que la reducción de la lactosa contenida en la leche se produce después del consumo de los cereales preparados con la leche, sin dañar el sabor de la leche.

25

Una materia objeto de la invención son además agentes que adicionalmente a otros ingredientes activos contienen además lactasa en combinación con *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus*.

30

La invención puede formularse en cualquier forma que sea adecuada para la vía de administración destinada. Para la administración por vía oral, los agentes de acuerdo con la presente invención se formulan preferentemente en la forma de cápsulas (recubiertas o no recubiertas), tabletas (recubiertas o no recubiertas), grageas (recubiertas o no recubiertas), cápsulas que contienen comprimidos recubiertos o no recubiertos, gránulos o micro o minitabledas, tabletas prensadas a partir de polvo recubierto o no recubierto, comprimidos o micro o minitabledas. Además son posibles para la administración por vía oral las cápsulas de gel recubiertas o no recubiertas (cápsulas de gelatina blanda).

35

La invención puede presentarse además como un suplemento oral seco o húmedo. La formulación de los agentes de acuerdo con la presente invención en forma de polvo es particularmente adecuada para una mezcla con un producto alimenticio. El polvo puede rociarse sobre una comida o puede mezclarse en una pulpa o una bebida. Es particularmente adecuado si el agente que se ofrece como polvo a granel se envasa en cantidades de dosificación únicas, tales como en bolsas únicas, o si se proporciona en un aparato de dosificación.

40

Es especialmente preferible si el agente de acuerdo con la presente invención se formula como un polvo o como gránulos o comprimidos en cápsulas o como una tableta que se administra por vía oral.

45

Los agentes o composiciones de la invención contienen típicamente al menos un portador o excipiente dietética y farmacéuticamente aceptable.

50

Para la administración por vía oral los ingredientes activos pueden estar contenidos en portadores y/o excipientes aceptables. El término "portador aceptable" se refiere a un portador que entrega el ingrediente activo a su sitio de destino y que no provoca un daño significativo al receptor, humano o animal. Sin embargo, la forma exacta del portador no es importante.

55

Un portador puede ser, por ejemplo, una envoltura de cápsula, un sobre o una matriz dentro del que están encerrados los ingredientes activos.

La cantidad total del portador y/o excipiente en relación con un agente de acuerdo con la presente invención es preferentemente entre 5 y 99.9% en peso, con mayor preferencia entre 10 y 95% en peso y aún con mayor preferencia entre 25 y 90% en peso de la composición.

60

Los excipientes y/o portadores adecuados incluyen maltodextrina, carbonato cálcico, fosfato dicálcico, fosfato tricálcico, celulosa microcristalina, dextrosa, harina de arroz, estearato magnésico, ácido esteárico, croscarmelosa sódica, glicolato sódico de almidón, crospovidona, sacarosa, resinas vegetales, lactosa, metilcelulosa, povidona, carboximetilcelulosa, almidón de maíz, almidón modificado, fibersol, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa y similares (que

65

incluyen mezclas de estos). Los portadores preferibles incluyen carbonato cálcico, estearato magnésico, maltodextrina, fosfato dicálcico, almidón modificado, celulosa microcristalina, fibersol, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa y mezclas de estos. Los diversos ingredientes y el excipiente y/o portador se mezclan y se forman en la forma deseada usando métodos comunes. La forma de presentación que está destinada para la administración por vía oral de acuerdo con la presente invención, tal como una tableta o cápsula, puede recubrirse con un recubrimiento que es resistente a valores de pH bajos o un recubrimiento gastrorresistente. Además puede usarse un recubrimiento que no es resistente a valores de pH bajos pero que proporciona la liberación retardada de la enzima respectiva o de la bacteria del ácido láctico respectiva a valores de pH bajos. Además es posible preparar el agente de acuerdo con la presente invención como comprimidos, gránulos, o micro o minitabletas recubiertos (ver anteriormente) que pueden llenarse en cápsulas no recubiertas o que pueden prensarse en tabletas no recubiertas. Los recubrimientos adecuados son, por ejemplo, ftalato de acetato de celulosa, derivados de celulosa, goma laca, derivados de polivinilpirrolidona, ácido acrílico, derivados del ácido poliacrílico y metacrilato de polimetilo (PMMA), tal como Eudragit (de Röhm GmbH, Darmstadt), particularmente Eudragit FS30D y Eudragit L30D-55. Mediante la adición de, por ejemplo, solución de hidróxido de sodio al agente de recubrimiento, puede influenciarse además la resistencia al pH de este agente de recubrimiento. Pueden encontrarse detalles adicionales acerca de los métodos de formulación y administración en la edición 21ª de "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", publicado en 2005 por Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, Estados Unidos, y en el "Lehrbuch der Pharmazeutischen Technologie" del Profesor Bauer, 18ª edición, publicada en 2006 por Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (ISBN 3804-72222-9), de manera que los documentos se incorporan de este modo como referencia.

Aunque de acuerdo con la presente invención tales bacterias del ácido láctico se usan preferentemente para sobrevivir al estómago con su envoltura bacteriana intacta tanto como sea posible, no obstante puede ser ventajoso aplicar un recubrimiento gastrorresistente a las bacterias del ácido láctico o formularlas, por ejemplo en cápsulas, grageas, tabletas, comprimidos, gránulos o cristales con un recubrimiento gastrorresistente, de manera que una proporción de bacterias tan grande como sea posible llegue al intestino delgado o al menos al duodeno (la parte superior del intestino delgado). Las bacterias del ácido láctico pueden además estar contenidas en, por ejemplo comprimidos, gránulos con un recubrimiento gastrorresistente, o puede aplicarse un recubrimiento gastrorresistente al polvo de bacterias del ácido láctico (por ejemplo usando un procedimiento de aspersión). Los comprimidos, los gránulos o el polvo pueden llenarse en cápsulas sin recubrimiento. Estos pueden contener además la lactasa que se supone que se liberará en el estómago. Un recubrimiento para proteger las bacterias del ácido láctico contra el ácido gástrico sería muy ventajoso particularmente si se usan bacterias del ácido láctico cuya envoltura bacteriana de cualquier otra manera sería destruida en el estómago, de manera que su lactasa microbiana se inactivaría en el estómago debido a por ejemplo el valor de pH bajo de allí.

Otros portadores y/o excipientes dietética y farmacéuticamente aceptables adecuados para su uso en la presente invención incluyen agua, aceite mineral, etilenglicol, propilenglicol, lanolina, estearato de glicerilo, estearato de sorbitán, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, acetona, glicerina, fosfatidilcolina, colato de sodio o etanol, pero sin limitarse a estos.

Las composiciones para el uso en la presente invención pueden comprender además al menos un agente coemulsionante, que incluye monoestearato de sorbitán oxietilenado, alcoholes grasos, tales como alcohol estearílico o alcohol cetílico, o ésteres de ácidos grasos y polioles, tales como estearato de glicerilo, pero sin limitarse a estos.

Preferentemente, los agentes que se usan en la presente invención se proporcionan en forma estabilizada. Generalmente, los métodos y procedimientos de estabilización que pueden usarse de acuerdo con la presente invención incluyen cualquiera y todos los métodos para la estabilización de material químico o biológico que se conocen en la técnica, que comprenden por ejemplo la adición de agentes químicos, los métodos que se basan en la modulación de la temperatura; los métodos que se basan en la irradiación o combinaciones de estos. Los agentes químicos que pueden usarse de acuerdo con la presente invención incluyen, entre otros, conservantes, ácidos, bases, sales, antioxidantes, mejoradores de la viscosidad, agentes emulsionantes, gelatinizantes, y mezclas de estos.

La lactasa ácida está comercialmente disponible (por ejemplo Amano Japón y DSM Países Bajos) y se prepara convencionalmente en una manera microbiológica con la ayuda del microorganismo *Aspergillus oryzae*. El *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* están también comercialmente disponible (por ejemplo Danisco, Dinamarca, o Christian Hansen, Dinamarca). Sin embargo, la invención no se limita a las enzimas lactasas ácidas que están disponibles comercialmente en el momento, sino se refiere generalmente a las enzimas que pueden provocar la conversión de la lactosa - específicamente o inespecíficamente - a glucosa y galactosa en combinación con bacterias del ácido láctico que pueden descomponer la lactosa en el intestino delgado, es decir ya sea mediante la liberación de lactasa o a través de la metabolización intracelular de la lactosa.

La actividad de la lactasa se define de acuerdo con la presente invención en unidades FCC (unidades Food Chemical Codex). Una unidad de enzima libera un micromol de o-nitrofenol por minuto a 37°C y un pH de 4.5, en las condiciones descritas en la sexta edición del Food Chemical Codex (ver allí la especificación completa de la medición, la descripción de la prueba, el cálculo de la actividad).

A una actividad de la enzima determinada de acuerdo con esta definición, el agente de acuerdo con la presente

invención debe contener 500 a 50000 unidades FCC, preferentemente 2000 a 20000 unidades FCC y particularmente preferentemente de 3000 a 12000 unidades FCC por unidad de dosis de lactasa.

5 Si se consideran las cantidades más abajo (en unidades formadoras de colonia, abreviado como ufc) con respecto a las bacterias del ácido láctico contenidas en el agente de acuerdo con la presente invención, se refieren a la cantidad de bacterias del ácido láctico todavía viables (en ufc) al final de la vida en estante del agente de acuerdo con la presente invención. Cabe señalar que las preparaciones que contienen bacterias del ácido láctico se almacenan preferentemente en un lugar seco y fresco. Así, con el fin de lograr una viabilidad suficientemente prolongada de las bacterias del ácido láctico, puede ser ventajoso almacenar el agente de acuerdo con la presente invención en un recipiente hermético y preferentemente impermeable al vapor de agua (por ejemplo de vidrio o de aluminio), equipado con un desecante (por ejemplo en la tapa), por ejemplo gel de sílice o tamices moleculares.

10 La cantidad de bacterias del ácido láctico se consideran en ufc (unidades formadoras de colonia). El agente de acuerdo con la presente invención debe contener entre 10 millones y 200 billones (billón = mil millones) de ufc, preferentemente entre 50 millones y 10 billones de ufc y particularmente preferentemente entre 100 millones y 2 billones de ufc (por ejemplo entre 100 millones y 1 billón de ufc) por cepa de bacterias del ácido láctico.

15 En el caso de un agente combinado que contiene *Lactobacillus bulgaricus* y/o *Streptococcus thermophilus* adicionalmente a la enzima lactasa, una unidad de dosis debe contener entre 10 millones y 200 billones de ufc de *Lactobacillus bulgaricus*, preferentemente entre 50 millones y 10 billones de ufc de *Lactobacillus bulgaricus* y particularmente preferentemente entre 100 millones y 2 billones de ufc (por ejemplo entre 500 millones y 2 billones de ufc) de *Lactobacillus bulgaricus*. Adicionalmente a o en lugar de las bacterias de *Lactobacillus bulgaricus*, el agente de acuerdo con la presente invención debe contener entre 10 millones y 200 billones de ufc de *Streptococcus thermophilus*, preferentemente entre 50 millones y 10 billones de ufc de *Streptococcus thermophilus* y particularmente preferentemente entre 100 millones y 2 billones de ufc (por ejemplo entre 500 millones y 2 billones de ufc) de *Streptococcus thermophilus* por unidad de dosis.

20 Un agente de acuerdo con la presente invención ha demostrado ser particularmente ventajoso, el que contiene entre 2000 y 12000 unidades FCC (por ejemplo entre 2000 y 6000 unidades FCC) de lactasa ácida, entre 100 millones y 10 billones de ufc (por ejemplo entre 100 millones y 2 billones de ufc) de *Lactobacillus bulgaricus* y entre 100 millones y 10 billones de ufc (por ejemplo entre 100 millones y 2 billones de ufc) de *Streptococcus thermophilus* por unidad de dosis. Pueden lograrse resultados particularmente ventajosos si la lactasa ácida se combina con las dos cepas de *Lactobacillus delbrueckii* LB-VC18 (número de depósito: DSM 23320) y *Streptococcus thermophilus* ST-VC18 (número de depósito: DSM 23319) depositadas en el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (Colección Alemana de Microorganismos y Cultivos Celulares) en Braunschweig, Alemania.

25 La amplia variedad de las dosificaciones mencionadas anteriormente puede explicarse por el hecho de que el agente de acuerdo con la presente invención puede aplicarse en una amplia variedad de niveles de gravedad diferentes y además en trastornos del metabolismo de la lactosa más leves. Los seres humanos y/o animales afectados reaccionan en diferente grado a una cierta carga de lactosa. Aparte de esto, las diferentes dosificaciones resultan además del hecho de que se suministran al cuerpo cantidades muy variables de lactosa, en dependencia del alimento consumido respectivo.

30 El agente de acuerdo con la presente invención puede contener, por ejemplo entre 500 y 50000 unidades FCC (por ejemplo entre 500 y 30000 unidades FCC) de lactasa y entre 10 millones de ufc y 200 billones de ufc de *Lactobacillus bulgaricus* y/o entre 10 millones de ufc y 200 billones de ufc de *Streptococcus thermophilus* por unidad de dosis. Adicionalmente a uno o ambos de estos microorganismos, el agente de acuerdo con la presente invención puede en cada caso contener además entre 10 millones de ufc y 200 billones de ufc de las siguientes bacterias del ácido láctico: *Lactobacillus delbrueckii* (subesp. distinta de *Lactobacillus bulgaricus*), *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilacti*, *Bifidococcus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*.

35 Aparte de esto, los aditivos adecuados pueden usarse en las cantidades requeridas.

40 La invención puede ponerse a disposición para propósitos médicos y para propósitos no médicos, por ejemplo como una composición farmacéutica, un dispositivo médico o un producto alimenticio.

45 La terapia a largo plazo en el presente contexto ha de entenderse en un sentido amplio. En el sentido de esta solicitud, la terapia no sólo se refiere a dar terapia para o tratar enfermedades, sino además incluye muy generalmente el uso del agente de acuerdo con la presente invención o de los agentes de acuerdo con la presente invención en la intolerancia a la lactosa y deficiencia de lactasa en seres humanos o en animales (ya que en casi todos los mamíferos la capacidad de digerir la lactosa disminuye después de suspender la lactancia materna). En el sentido de esta solicitud, la terapia abarca en consecuencia particularmente el uso del agente de acuerdo con la presente invención o de los agentes de acuerdo con la presente invención para prevenir, eliminar, aliviar, reducir o actuar como una medida preventiva contra la aparición de (a) todos los tipos y niveles de gravedad de síntomas, (b) todos los tipos y niveles de gravedad de

indisposiciones y (c) todas las formas de daños a la salud y molestias que pueden producirse como resultado de la ingestión de lactosa o productos alimenticios que contienen lactosa o a través de la liberación de lactosa en el tracto digestivo de seres humanos o animales a partir de otras sustancias, por ejemplo composiciones farmacéuticas. Además, en el sentido de esta solicitud, la terapia abarca la erradicación, el alivio, la eliminación, la reducción, las medidas preventivas contra y la prevención de distensión abdominal, gases, dolor de estómago, dolor de estómago con cólicos, cólicos, diarrea, diarrea acuosa, ruidos intestinales, calambres abdominales, eructos, náuseas, vómitos, flatulencia, desequilibrio microbiológico en los intestinos o aumento de la producción de gas intestinal asociada con la ingestión de lactosa o productos alimenticios que contienen lactosa o con la liberación de lactosa en el tracto digestivo de seres humanos o animales a partir de otras sustancias, por ejemplo composiciones farmacéuticas. Además, en el sentido de esta solicitud, la terapia abarca la erradicación, el alivio, la eliminación, la reducción, las medidas preventivas contra y la prevención de cualquier tipo de depresión, dolores de cabeza, migrañas, eczema, erupciones cutáneas y, carencia de apetito y pérdida de peso asociados con la ingestión de lactosa o productos alimenticios que contienen lactosa o con la liberación de lactosa en el tracto digestivo de seres humanos o animales a partir de otras sustancias, por ejemplo composiciones farmacéuticas o asociados con la digestión insuficiente de lactosa o malabsorción de la lactosa. Además, la terapia en el sentido de esta invención abarca la reducción de la biodisponibilidad de la lactosa en el cuerpo humano o animal y la reducción de la cantidad de lactosa disponible para el cuerpo humano o animal o para las bacterias intestinales que colonizan en el mismo.

En el contexto de esta solicitud el término terapia incluye la profilaxis y el tratamiento.

Ejemplos

La invención se ilustrará ahora, pero sin limitarse, con referencia a los ejemplos expuestos más abajo.

Ejemplo 1

Composiciones en cápsulas

Las siguientes composiciones en cápsulas pueden prepararse mediante la mezcla de lactasa de *Aspergillus oryzae*, y *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus* liofilizados.

Composición en cápsula A - Cápsula de tamaño 1

Una cápsula de gelatina de tamaño 1 (volumen 0.5 ml) que puede conseguirse de Capsugel BVBA, Bornem, Bélgica se llena con 70 mg de lactasa (la actividad de la lactasa es 50000 FCC/g), 40 mg de *Streptococcus thermophilus* (30 billones de ufc/g) liofilizado, 30 mg de *Lactobacillus bulgaricus* (50 billones de ufc/g) liofilizado y 200 mg de fosfato dicálcico por cápsula.

Una cepa preferida de *Streptococcus thermophilus* es *Streptococcus thermophilus* ST-VC18 (número de depósito: DSM 23319) y una cepa preferida de *Lactobacillus bulgaricus* es *Lactobacillus delbrueckii* LB-VC18 (número de depósito: DSM 23320).

Composición en cápsula B - Cápsula de tamaño 3

Una cápsula de gelatina de tamaño 3 (volumen 0.3 ml) que puede conseguirse de Capsugel BVBA, Bornem, Bélgica se llena con 70 mg de lactasa (actividad de la lactasa 50000 FCC/g), 30 mg de *Streptococcus thermophilus* (30 billones de ufc/g), 20 mg de *Lactobacillus bulgaricus* (50 billones de ufc/g) y 100 mg de fosfato dicálcico por cápsula.

Composición en cápsula C - Cápsula de tamaño 0

Una cápsula de gelatina de tamaño 2 (volumen de 0.68 ml) que puede conseguirse de Capsugel BVBA, Bornem, Bélgica se llena con 150 mg de lactasa (actividad de la lactasa 50000 FCC/g), 100 mg de *Streptococcus thermophilus* (30 billones de ufc/g), 50 mg de *Lactobacillus bulgaricus* (50 billones de ufc/g) y 250 mg de fosfato dicálcico.

Composición en cápsula D - Cápsula de tamaño 2

Una cápsula de gelatina de tamaño de 3 (volumen de 0.37 ml) que puede conseguirse de Capsugel BVBA, Bornem, Bélgica se llena con 100 mg de lactasa (actividad de la lactasa 100000 FCC/g), 50 mg de *Streptococcus thermophilus* (30 billones de ufc/g), 30 mg de *Lactobacillus bulgaricus* (50 billones de ufc/g) y 100 mg de fosfato dicálcico.

Ejemplo 2

Una investigación del efecto de una combinación de lactasa y de bacterias del ácido láctico sobre la digestión de la lactosa en sujetos que absorben mal la lactosa

Se llevó a cabo una investigación para comparar los efectos de la lactasa, las bacterias del ácido láctico liofilizadas y

una combinación de lactasa y bacterias del ácido láctico sobre la digestión de la lactosa en sujetos que absorben mal la lactosa.

5 La investigación consistió en un estudio cruzado aleatorizado, doble a ciegas, controlado por placebo que implicó a veinticuatro sujetos humanos que absorben mal la lactosa. Inicialmente se reclutaron treinta sujetos para el estudio pero se encontró que seis no absorbían mal la lactosa y por lo tanto los resultados obtenidos a partir de estos seis sujetos se excluyeron del análisis de los resultados.

10 El estudio comprende un examen de entrada y cinco días de experimentación, separados por 4 períodos de lavado de dos semanas cada uno. Durante el estudio, se pidió a los participantes no cambiar sus hábitos alimenticios y abstenerse de tomar vitaminas, minerales y otros suplementos. Al comienzo de cada día experimental, después de un ayuno nocturno, se tomó una primera muestra de aliento de cada sujeto. Después de eso cada sujeto ingirió una de las cinco preparaciones de prueba en orden aleatorio.

15 Las preparaciones de prueba se proporcionaron en cápsulas de idéntica apariencia, de las que se administró una por comida experimental a los participantes en el estudio junto con 150 ml de leche a la que se adicionó 5 g de lactosa, lo que resulta en una leche fortificada con lactosa que contiene aproximadamente 12.5 g de lactosa. Las composiciones de las cinco preparaciones de prueba son las siguientes:

20 Preparación (a): Cápsula que contiene 1×10^9 ufc de *Streptococcus thermophilus* más 1×10^9 ufc de *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus*.

Preparación (b): que contiene 3300 FCC de lactasa ácida de *Aspergillus oryzae*

25 Preparación (c): Cápsula que contiene 9000 FCC de lactasa ácida de *Aspergillus oryzae*

Preparación (d): Cápsula que contiene una combinación de 3300 FCC de lactasa ácida más 1×10^9 ufc de *Streptococcus thermophilus* y 1×10^9 ufc de *Lactobacillus delbrückii ssp. bulgaricus* (preparación de prueba a))

30 Preparación (e): Fosfato Dicálcico (placebo).

35 Las bacterias del ácido láctico en las preparaciones de prueba (a) y (d) son las cepas ST-VC 18 y LB-VC18 descritas en el Ejemplo 1 y en la descripción en la página 24 anterior. La preparación de prueba (b) es Lactrase 3300 (Pro Natura Gesellschaft für Ernährung gesunde mbH, Bad Vilbel, Alemania), la preparación de prueba (c) es Lactrase Plus 9000 (Pro Natura Gesellschaft für Ernährung gesunde mbH, Bad Vilbel, Alemania) y la preparación de prueba (d) es Lactrase 3300 (Pro Natura) a las que se adicionaron las bacterias del ácido láctico.

40 La aleatorización de los participantes en el estudio así como también el envasado y la codificación de las preparaciones de prueba fue realizada por los sujetos que de cualquier otra forma no se implicaron en el estudio.

45 La dosis de lactosa que se dio (12.5 g) es menor que para una prueba clásica de malabsorción de la lactosa (50 g), pero está más cerca del contenido de lactosa de los productos alimenticios ingeridos normalmente. En la prueba clásica de la malabsorción de la lactosa (llevada a cabo con 50 g de lactosa) las concentraciones pico de H_2 de 20 ppm y más se consideran una prueba de malabsorción de lactosa. Sin embargo, debido a las dosis más pequeñas de lactosa que se dieron en el presente estudio, se usó un umbral inferior para determinar si un participante es un sujeto que absorbe mal la lactosa. Por lo tanto, los participantes con concentraciones pico de H_2 de 13 ppm y más con placebo se consideraron que absorben mal la lactosa y los resultados obtenidos a partir de estos participantes se incluyeron en el estudio.

50 El efecto de las preparaciones de prueba sobre la digestión de la lactosa se midió usando pruebas de aliento de H_2 que se llevaron a cabo en un MicroLyzer Modelo 12i, Quintron Instruments, Milwaukee, WI 53215, Estados Unidos. Cuando las bacterias en el colon fermentan carbohidratos se libera gas de hidrógeno en aproximadamente 90% de la población. Por lo tanto, la cantidad de hidrógeno en el aliento espirado proporciona un buen indicador de la cantidad de lactosa que se fermenta en el colon y constituye además un buen indicador de la deficiencia de lactasa en el intestino delgado.

55 Se tomaron muestras de aliento por 3 horas. La concentración pico de H_2 se eligió como un parámetro para la digestión de la lactosa. Las concentraciones pico de H_2 para cada uno de los sujetos y cada una de las cinco preparaciones se muestran en la tabla más abajo.

ID del sujeto	H_2 valores máx				
	Preparación (e)	Preparación (a)	Preparación (b)	Preparación (c)	Preparación (d)
3501	27	48	2	16	7
3503	15	12	4	2	18
3504	37	36	33	46	9
3505	27	10	24	16	15

3506	27	14	29	35	18
3507	48	44	25	14	7
3508	18	38	24	23	15
3509	22	33	45	27	20
3510	33	33	28	33	28
3511	29	29	12	45	18
3513	13	10	6	4	17
3514	17	9	8	10	4
3516	15	21	7	10	13
3517	34	19	10	3	10
3518	15	5	16	22	11
3520	15	7	14	10	6
3521	27	12	31	5	9
3522	13	5	8	2	16
3524	21	16	5	3	5
3526	26	18	16	16	19
3527	19	17	18	16	12
3528	22	15	18	12	13
3529	45	45	61	24	15
3530	53	33	22	39	43

El análisis estadístico de los resultados del estudio mostró que hubo un efecto global significativo entre las dietas con respecto a los valores máximos de H₂ obtenidos (Prueba de Friedmann, p=0.001). La comparación múltiple (Wilcoxon) mostró diferencias significativas con respecto a los valores máximos de H₂ entre la preparación (b), que contiene 3300 unidades FCC de lactasa, y la preparación placebo (e), entre (c), que contiene 9000 unidades FCC de lactasa, y la preparación placebo (e) y entre la preparación de combinación (d), que contiene 3300 FCC de lactasa más 2 billones de ufc de bacterias del ácido láctico, y la preparación placebo (e). Además la variación media (dispersión) de los valores máximos de H₂, es decir el área de 25/75% intercuartiles para la preparación (d) fue sólo la mitad del tamaño de las variaciones medias de los demás preparaciones de prueba (es decir las preparaciones (a), (b) y (c)).

Los resultados demostraron que las cuatro preparaciones que contienen ingrediente(s) activo(s); es decir la preparación (a) (bacterias solas), la preparación (b) (3300 FCC), la preparación (c) (9000 FCC) y la preparación (d) (la preparación de combinación) redujeron las concentraciones de H₂ del aliento al menos en algunos sujetos pero sólo la preparación de 3300 FCC (preparación (b)), la preparación de 9000 FCC (preparación (c)) y la preparación de combinación (preparación (d)) mostraron un efecto significativo. La preparación de combinación (d) fue más eficaz aun que la preparación que contiene 9000 FCC (c) y además mostró una variación media significativamente inferior en los valores de espiración de H₂. Un análisis de los datos mostró que menos participantes que recibieron la preparación de combinación (d) disfrutaron de poco o ningún efecto beneficioso. La ventaja de la preparación de combinación (d) por lo tanto no fue sólo su contribución más fuerte a la digestión de la lactosa sino además que fue eficaz en una mayor proporción de los participantes en el estudio. Por lo tanto puede llegarse a la conclusión de que más sujetos que absorben mal la lactosa se beneficiarían del efecto digestivo de la lactosa de la preparación de combinación (d) que los que se beneficiarían de la preparación individual de bacterias del ácido láctico (a) y de las preparaciones de lactasa (b) y (c).

Ejemplo 3

Una investigación del recambio de lactosa mediante la incubación de la lactosa con bacterias de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*

En este estudio, se investigó el grado de escisión de lactosa por bacterias liofilizadas y cultivos resuspendidos de *Streptococcus thermophilus* y de *Lactobacillus bulgaricus*.

La cepa de *Streptococcus thermophilus* usada fue *Streptococcus thermophilus* ST-VC18 (número de depósito: DSM 23319) y la cepa de *Lactobacillus bulgaricus* usada fue *Lactobacillus delbrueckii* LB-VC18 (número de depósito: DSM 23320).

Liofilizados de ambos cultivos se resuspendieron en amortiguador de fosfato, pH 7.3, tanto por separado como en una mezcla 1:1 de ambas bacterias basada en las unidades formadoras de colonia (ufc). Además, se hicieron investigaciones en cuanto a si la actividad de la lactasa en estas preparaciones bacterianas es estable en un medio ácido comparable al del estómago (fluido gástrico simulado = SGF). En todos los casos se probó la escisión de la lactosa en presencia de enzimas pancreáticas (cápsulas de Kreon que contienen, 10000 unidades de lipasa, 8000 unidades de amilasa y 600 unidades de proteasa del páncreas de acuerdo con la Farmacopea Europea y dodecilsulfato de sodio) a partir de páncreas porcino que contiene enzimas del páncreas activas más detergente para imitar la actividad de la bilis (fluido intestinal simulado = SIF). La cantidad de glucosa, como se mide enzimáticamente por el

ensayo de glucosa oxidasa, se tomó como una medida del recambio de lactosa. Se usó el ensayo de glucosa oxidasa como se describe y como se refiere en la hoja de datos del ensayo de la glucosa oxidasa de Sigma Aldrich Chem. Co., 1996.

- 5 Las bacterias liofilizadas (1 mg/ml) se resuspendieron en 1 ml de amortiguador de fosfato (0.1 mol/l). Se adicionaron lactosa (10 mmol/l) y Kreon en una concentración de 2 cápsulas por litro (ingesta recomendada de 1 a 2 cápsulas por comida) y la suspensión se incubó por 10 y 30 minutos. En este experimento, la incubación de *Lactobacillus bulgaricus* resultó en la liberación de 1.7 mmol/l de glucosa después de 30 minutos y la incubación con *Streptococcus thermophilus* produjo 2.8 mmol/l de glucosa, lo que indica recambios de 17 y 28% respectivamente.
- 10 Con el fin de probar la estabilidad en ácido de la actividad de la lactasa, se incubaron liofilizados resuspendidos (1 mg/ml de liofilizado de bacterias por ml de suspensión) con fluido gástrico simulado, pH 4.0, por 10, 30 y 60 minutos. La suspensión se neutralizó mediante la adición de amortiguador de fosfato para dar un pH de aproximadamente 7.0, y después se adicionaron lactosa (10 mmol/l) y Kreon y se determinó la actividad de la lactasa como se describe anteriormente (30 min de incubación de la suspensión bacteriana con lactosa, es decir condiciones idénticas).
- 15 Las suspensiones de *Lactobacillus* liberaron 2.0 a 2.5 mmol/l de glucosa después de 30 minutos y las suspensiones de *Streptococcus* liberaron 3 a 3.5 mmol/l glucosa después de este período. No se observaron diferencias entre las muestras incubadas por 10, 30 o 60 minutos con fluido gástrico simulado.
- 20 Este experimento demuestra que la actividad de la lactasa en ambas preparaciones es estable en un medio ambiente de estómago reconstituido.
- 25 En un tercer experimento se mezclaron liofilizados de *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus* en una base 1:1 (basado en el número de unidades formadoras de colonia). Para las mediciones del recambio, se resuspendieron 1 mg de bacterias *Streptococcus* y 0.6 mg de *Lactobacillus* en 1 ml de amortiguador de fosfato y la mezcla resultante se incubó con fluido intestinal simulado. Después de incubar esta mezcla por 30 minutos con lactosa 10 mmol/l, se detectaron 3.1 mmol de glucosa.
- 30 La misma mezcla se incubó por 30 minutos con fluido gástrico simulado antes de la determinación de la lactasa. Después de la neutralización y la incubación por 30 minutos en fluido intestinal simulado con lactosa 10 mmol/l, la concentración de glucosa se encontró que era 3.15 mmol/l demostrando de esta manera la estabilidad de esta mezcla contra las condiciones ácidas.
- 35 Los experimentos demuestran la presencia de la actividad de la lactasa en bacterias liofilizadas. Esta actividad de la lactasa es estable y activa en el fluido intestinal simulado, aun después de someterse a fluido gástrico simulado antes de probarse en el SIF. A partir de estos experimentos puede concluirse que la hidrólisis *in vivo* de la lactosa en el intestino delgado puede lograrse mediante la ingestión de la combinación de ambas bacterias o mediante la ingestión de cada bacteria en sí y que no hay diferencia significativa entre las actividades de los tipos individuales de bacterias
- 40 cuando se usan solas o cuando se usan en combinación.
- 45 Los datos proporcionados en los ejemplos anteriores demuestran que las combinaciones de la lactasa ácida y las bacterias *Streptococcus thermophilus* y/o *Lactobacillus bulgaricus* proporcionan una mejora más eficaz y más fiable en la digestión de la lactosa en los sujetos que absorben mal la lactosa que las composiciones que contienen sólo la lactasa o las composiciones que contienen sólo las bacterias. Además, contrariamente a las enseñanzas en los documentos de la técnica anterior discutidos anteriormente, es posible presentar las bacterias en forma seca y no es necesario recubrir las bacterias con un recubrimiento entérico con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado.

Reivindicaciones

- 5
1. Una composición para el uso en la terapia de la intolerancia a la lactosa o condiciones resultantes de la deficiencia de lactasa, en donde la composición es una forma de dosificación sólida no láctea que comprende:
- (a) una lactasa la cual es estable y activa en un intervalo de pH de 3 a 6; el término estable significa que la lactasa (a) todavía tiene al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C a un pH en el intervalo de 3 a 6; y
- 10 (b) uno o más microorganismos que producen lactasa y/o que contienen lactasa seleccionados de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; en donde la lactasa (a) es distinta de la lactasa derivada de dicho uno o más microorganismos (b); y en donde el uno o más microorganismos que producen lactasa y/o que contienen lactasa (b) están en forma seca.
- 15 2. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde la forma de dosificación es distinta a una cápsula recubierta con un recubrimiento entérico.
3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 en donde los organismos que producen lactasa o que contienen lactasa no son recubierto entéricamente.
- 20 4. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde la lactasa (a) exhibe actividad pico a un pH en el intervalo de 3 a 6.
5. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en donde la lactasa (a) se deriva de un microorganismo, y la composición está sustancialmente libre del microorganismo del cual se deriva la lactasa.
- 25 6. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 la cual contiene *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*.
- 30 7. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en donde la forma de dosificación sólida se selecciona de cápsulas, tabletas, grageas, polvos, comprimidos y gránulos.
8. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 la cual está en forma de dosificación unitaria.
- 35 9. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 8 en donde la forma de dosificación unitaria se selecciona de cápsulas, tabletas y grageas.
- 40 10. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 9 en donde la forma de dosificación unitaria es una cápsula.
11. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que contiene entre 2000 y 12000 FCC unidades de enzima de la lactasa (a).
- 45 12. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 que contiene de 50 millones a 10 billones unidades formadoras de colonia de *Lactobacillus bulgaricus* y de 50 millones a 10 billones de unidades formadoras de colonia de *Streptococcus thermophilus*.
- 50 13. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 la cual está sustancialmente libre de lactosa.
14. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 en donde el *Lactobacillus bulgaricus* es *Lactobacillus delbrueckii LB-VC18* (número de depósito: DSM 23320).
- 55 15. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 en donde el *Streptococcus thermophilus* es *Streptococcus thermophilus ST-VC18* (número de depósito: DSM 23319).
- 60 16. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 en donde la lactasa (a) se deriva de una especie de *Aspergillus*.
17. Una composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 16 en donde la especie de *Aspergillus* es *Aspergillus oryzae*.
- 65 18. Una composición para el uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 en donde la composición es distinta de una composición que contiene una combinación de dos o más extractos de hierba

adicionados junto con lipasa exógena y proteasa exógena.

- 5
19. Una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 la cual contiene (c) un excipiente o portador dietética y farmacéuticamente aceptable.
- 10
20. Una forma de dosificación sólida seleccionada de cápsulas, tabletas, grageas, polvos, comprimidos y gránulos que no está recubierta por un recubrimiento entérico y que contiene (a) una lactasa que es estable y activa en un intervalo de pH de 3 a 6; el término estable significa que la lactasa (a) todavía tiene al menos 30% de su actividad después de una hora a 37°C a un pH en el intervalo de 3 a 6; y (b) uno o más microorganismos que producen lactasa o que contienen lactasa seleccionados de *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*; en donde (a) y (b) son como se definen en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19; siempre y cuando la composición es distinta de una composición que contiene en conjunto dos o más extractos de hierba adicionados junto con lipasa exógena y proteasa exógena.
- 15
21. Una forma de dosificación sólida de acuerdo con la reivindicación 20 la cual se selecciona de cápsulas, tabletas y grageas.