

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 215**

51 Int. Cl.:

A61K 38/52 (2006.01)

A61K 33/32 (2006.01)

A61P 1/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2009** **E 09775597 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.07.2014** **EP 2340035**

54 Título: **Tratamiento de la malabsorción de fructosa**

30 Prioridad:

04.09.2008 EP 08450128

04.09.2008 AT 13802008

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

29.10.2014

73 Titular/es:

SCIOTEC DIAGNOSTIC TECHNOLOGIES GMBH

(100.0%)

Ziegelfeldstrasse 3

3430 Tulln, AT

72 Inventor/es:

MISSBICHLER, ALBERT

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 515 215 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

Tratamiento de la malabsorción de fructosa

5 El presente invento se refiere a una composición que está destinada al tratamiento de la malabsorción de fructosa.

La fructosa (azúcar de frutas, frecuentemente también denominada de manera anticuada como levulosa) pertenece como un monosacárido (un azúcar sencillo) a los hidratos de carbono. La fructosa es una forma de azúcar que está muy propagada en la alimentación humana.

10 La fructosa, como una hexosa libre, se presenta en el azúcar doméstico (el azúcar de caña y el de remolacha), unida a la glucosa como el disacárido sacarosa, y en una forma polimerizada como unos fructanos indigestibles. A causa de su poder edulcorante, que es más alto en aproximadamente un 20 % en comparación con un azúcar normal, y de sus más favorables posibilidades de transporte, la fructosa libre se está empleando crecientemente en el sector alimentario.

15 Al contrario que la glucosa, la fructosa no es asimilada activamente en los intestinos, sino que es resorbida pasivamente, de una manera manifiestamente más lenta, por medio de unas proteínas especiales. Aproximadamente la mitad de la población no es capaz de resorber más de 25 g de fructosa por día. El consumo diario promedio se sitúa, sin embargo, entre 11 g y 54 g por día. En este contexto es importante señalar que la mayor parte de la fructosa es aportada a través de las denominadas bebidas blandas (en inglés "softdrinks"), que tienen una importancia creciente en la ingestión promedio de alimentos. El creciente empleo de los HFCS (acrónimo del inglés "high fructose corn syrups" = jarabes de maíz con un alto contenido de fructosa) como sustancia edulcorante agudiza adicionalmente este problema.

20 Como consecuencia de esta malabsorción resultan una perturbación del equilibrio osmótico y adicionalmente una rápida degradación por medio de las bacterias que se presentan en el intestino grueso. Esto conduce, por un lado, a una perturbadora formación de gases en los intestinos, a un perjuicio de la motilidad intestinal y, a medio plazo, a una alteración de la población de bacterias. Como consecuencia de esto, puede resultar un síndrome de intestino irritable clínicamente manifiesto.

25 El diagnóstico de una malabsorción de fructosa se efectúa, de acuerdo con el estado de la técnica, con una provocación con fructosa y una subsiguiente determinación del contenido de H₂ en el aire que se respira. La especificidad de este ensayo se sitúa ampliamente por debajo de un 50 %.

30 Como terapia, hasta ahora está a disposición exclusivamente un tratamiento dietético que, no obstante, debido al amplio empleo de la fructosa que más arriba se ha expuesto, es muy difícil de respetar por parte del usuario. Adicionalmente, la evitación de la ingestión de frutas conduce a unas manifestaciones carenciales que, a su vez, tienen que ser compensadas.

35 La asimilación de hidratos de carbono en el intestino delgado se basa en la disociación hidrolítica, realizada por hidrolasas en el lumen intestinal y en la mucosa intestinal, para dar unos monosacáridos de hexosas, glucosa, galactosa y fructosa, que se resorben entonces por el epitelio intestinal. Esta resorción es realizada en su parte predominante por tres proteínas transportadoras: SGLT1, GLUT5 y GUT2.

40 La SGLT1 (proteína transportadora concomitante de sodio y glucosa) cumple su función en el borde veloso del epitelio del intestino delgado. La SGLT1 transporta a la glucosa y a la galactosa contra un gradiente de concentraciones, especialmente en el caso de una baja concentración de glucosa en el lumen intestinal.

45 La GLUT5 es específica para la fructosa y es una denominada proteína transportadora facultativa. De esta manera la GLUT5 depende en gran manera de un gradiente de concentraciones entre el lumen intestinal y la circulación sanguínea. La GLUT5 está presente en toda la pared del intestino delgado.

50 La GLUT2 es finalmente una proteína transportadora facultativa de glucosa, fructosa y galactosa con baja afinidad. La GLUT2 es incorporada en el caso de una actividad de SGLT1, notoriamente con rapidez y de una manera reversible, en la pared intestinal. La actividad de la GLUT2 depende de múltiples factores y es designada por ello como en inglés "diffusional pathway" (ruta difusiva).

55 La malabsorción de fructosa puede conducir a las más diversas consecuencias.

60 Como unas moléculas pequeñas, la fructosa y los fructanos conglomeran y reúnen en torno a ellas unas grandes cantidades de agua y transportan a ésta hasta el intestino delgado distal y finalmente hasta el intestino grueso. Esto da lugar a una aceleración de la transferencia intestinal, este efecto es utilizado en el caso de los laxantes.

65 La fructosa incorporada en el intestino grueso es transformada rápidamente en ácidos grasos de cadenas cortas por las bacterias que están presentes en el anfitrión. En este caso, resultan grandes cantidades de hidrógeno, de CO₂ y

algunas veces también de metano. Los ácidos grasos de cadenas cortas influyen sobre el valor del pH del intestino y procuran también una motilidad más alta.

5 Algunas bacterias utilizan fructosa para la formación de fructanos, que sirven como factores de adhesión a la pared intestinal. La influencia de estas bacterias, que son entonces adherentes, es muy diversa y controvertida. En el caso de las ratas se observó una proliferación aumentada del epitelio y una excesiva segregación de mucina, este hecho es relacionado normalmente con una irritación de las mucosas.

10 Adicionalmente, una malabsorción de fructosa es puesta también en relación con unas depresiones, puesto que con ella se influye sobre la cantidad de triptófano, que es el precursor de la serotonina, que está presente en la circulación sanguínea.

15 La influencia de la malabsorción de fructosa sobre el desarrollo de trastornos gastrointestinales fue reconocida por primera vez en 1978 (véase la cita de Andersson DE, Nygren A: Acta Med Scand 1978; 03:87-92). No obstante - y posiblemente debido también a la ausencia de un método de diagnóstico específico y sensible - la malabsorción de fructosa no ha sido reconocida hasta ahora en términos generales como una enfermedad. Esto también es comprensible, puesto que existen unas perturbaciones diversamente fuertes de la absorción, y la transición desde "normal" a "patológico" está sometida a unas muy fuertes fluctuaciones que son específicas para cada persona.

20 La fructosa no solamente constituye un problema en el caso de una malabsorción de fructosa, sino que también en el caso de la intolerancia hereditaria frente a la fructosa, incluyéndose a veces ambos cuadros patológicos en la bibliografía en el concepto de una "intolerancia a la fructosa". La incompatibilidad frente al azúcar de frutas se presenta en una frecuencia de aproximadamente 1:20.000. En este caso se trata de un trastorno hereditario autosómico recesivo del metabolismo de la fructosa, en cuyo caso la fructosa no puede ser degradada o sólo puede serlo en unas cantidades insuficientes. A partir de esto resulta un contenido aumentado del azúcar de frutas en las células con un efecto tóxico, que a su vez perturba a la metabolización de la glucosa. La consecuencia de esto es un descenso del nivel de azúcar en sangre (génesis de hipoglucemias).

30 La malabsorción de fructosa solamente puede ser tratada mediante unas rigurosas dietas pobres en fructosa o respectivamente exentas de fructosa. Mediante una alimentación unilateral, en cuyo caso se tiene que prescindir de ciertos alimentos tales como la fruta, los zumos de frutas, etc., se llega frecuentemente a unas manifestaciones carenciales, que ejercen un efecto negativo sobre el estado de salud del paciente. Con el fin de prevenir unas posibles carencias o deficiencias, por ello, además de someterse a una rigurosa dieta, se deben de ingerir por los pacientes también unos productos adicionales tales como p.ej. ciertos preparados vitamínicos. Por lo tanto, debe de interesar a todos los afectados así como también al sistema sanitario el hecho de poner a disposición una forma de terapia que sea eficiente y realizable para amplios sectores de la población.

40 En el documento de solicitud de patente internacional WO 2007/0577749 se describen unas formulaciones, que se basan en el empleo de la 5-D-fructosa deshidrogenasa (EC 1.1.1.124; FDH). Esta enzima modifica a la fructosa de tal manera que ésta ya no puede ser utilizada como un sustrato por las bacterias en el tracto gastrointestinal y que, por lo tanto, tampoco puede provocar ningún trastorno. Para apoyar al efecto de la FDH se propone la adición de la xilosa isomerasa.

45 En los documentos de patentes alemanas DE 10 2006 013 624 y DE 10 2007 008 664 se describe a la xilosa isomerasa de un modo general como un agente para la transformación de fructosa en glucosa.

En la cita de BHOSALE, S.G. y colaboradores (Microbiol Rev 60(2), (1996): 280-300) se discute, entre otras cosas, la importancia de las sales de metales alcalino-térreos para la actividad de la xilosa isomerasa.

50 En el documento WO 91/05857 A se describe un procedimiento para la cristalización de enzimas, tales como, por ejemplo, la glucosa isomerasa. Además, a partir de este documento se deduce que en el caso de la cristalización de enzimas se tienen que utilizar unas sales divalentes, tales como, por ejemplo, el sulfato de magnesio.

55 El documento WO 01/12834 A se refiere, entre otras cosas, a una composición, que comprende una xilosa isomerasa cristalina reticulada, y en el curso de la conversión química del sustrato se pone en contacto con sulfato de magnesio.

60 En el documento de patente de los EE.UU. US 3.847.740 A se divulga una composición, que comprende la xilosa isomerasa y el carbonato de magnesio.

En el documento de patente de los EE.UU. US 5.437.993 se describe, entre otras cosas, la producción de cristales reticulados de glucosa isomerasa.

65 En el documento WO 03/099410 A se describe un procedimiento para la separación y la purificación de nucleósidos, en cuyo caso se emplea una xilosa isomerasa cristalina reticulada.

En la cita de Carrell H.L. y colaboradores, PNAS, 86(12)(1989): 4440-4444 se divulga la estructura radiográfica determinada con rayos X de la xilosa isomerasa. Además de esto, se menciona por los autores que ciertos iones de metales divalentes, tales como por ejemplo los del magnesio, son necesarios para la actividad catalítica de la xilosa isomerasa.

Yamanaka (Biochim Biophys Acta 151(1968):670-680) describe la purificación, la cristalización y la caracterización de la xilosa isomerasa procedente de *Lactobacillus brevis*.

Es una misión del presente invento poner a disposición unos agentes y medios, que en el caso de la malabsorción de fructosa sean capaces de impedir la penetración de la fructosa en el intestino grueso, con el fin de reprimir o respectivamente reducir de una manera significativa los síntomas patológicos que resultan en este caso. De esta manera se puede hacer posible que los pacientes, que han adquirido una enfermedad tal, lleven una vida ampliamente "normal", en la que no se tenga que prescindir de unos alimentos que contienen fructosa.

El presente invento se refiere a una composición que comprende una xilosa isomerasa (EC 5.3.15) cristalina y por lo menos una sal de un cierto metal y/o de un metal alcalino-térreo para su utilización en el tratamiento de la malabsorción de fructosa.

Sorprendentemente, se ha puesto de manifiesto que la xilosa isomerasa en una forma cristalina y en presencia de sales de ciertos metales y/o de metales alcalino-térreos tiene una alta actividad en comparación con la xilosa isomerasa que ha sido preparada de un modo usual. La forma cristalina de la xilosa isomerasa tiene también la ventaja de que la enzima es protegida, por ejemplo, frente a la acción de los ácidos en el estómago y de las proteasas, cuando la xilosa isomerasa cristalina es reticulada. La reticulación se puede conseguir mediante unos procedimientos establecidos y consagrados (p.ej. véase la cita de Vallejo-Becerra y colaboradores (J Agric Food Chem. 2008, Feb. 07; 56(4): 1392 - 1397) o la de Wenzel y colaboradores (FEBS Lett. 1991, March 111; 280(1): 147 - 151). De esta manera se podría administrar la xilosa isomerasa, en el caso de una administración por vía oral, eventualmente sin ningún revestimiento o con un reducido revestimiento resistente al ácido gástrico.

La xilosa isomerasa o respectivamente la composición correspondiente se presenta de manera preferida como un polvo de grano fino secado, que ha sido cristalizado de manera preferida en presencia de unos iones de metales como cofactores, con el fin de asegurar una rápida biodisponibilidad y una alta actividad específica. Los cristales de la xilosa isomerasa pueden ser molidos a la forma de un grano fino mediante un molino. Esta modalidad de la producción da lugar a una actividad máxima en el medio fisiológico de los intestinos y a una rápida liberación por causa de una muy buena solubilidad en el lumen intestinal.

Con ayuda del preparado conforme al invento de la xilosa isomerasa se pudo aumentar en un valor múltiplo sorprendentemente la actividad y la biodisponibilidad. En los casos de unos voluntarios se pudo mostrar que estas altas actividad y eficacia impiden de una manera esencial o respectivamente total la penetración de la fructosa en el intestino grueso. Mediante la resorción de la glucosa en la región intestinal, que se efectúa más rápidamente, se sustrae constantemente glucosa desde la reacción de equilibrio (fructosa $\leftrightarrow$ glucosa), de tal manera que la fructosa es degradada a lo largo del tiempo. De esta manera se impide que la fructosa en exceso permanezca en la región intestinal y que dé lugar a los conocidos trastornos para la salud debido a la malabsorción de fructosa y como consecuencia ulterior a unos síntomas de la malabsorción de fructosa.

La xilosa isomerasa se utiliza a gran escala técnica en la industria alimentaria para la preparación de fructosa a partir de glucosa, con el fin de alcanzar un grado de edulcoración más alto. Dentro de los parámetros del entorno en el intestino delgado (es decir de substracción de glucosa desde la reacción de equilibrio) la actividad de la xilosa isomerasa preparada conforme al invento es empujada a la dirección inversa: la enzima isomeriza a la fructosa para dar glucosa. La enzima empleada a la escala industrial contiene sin embargo grandes cantidades de sustancias perturbadoras, en particular de sorbitol, que inhiben decisivamente a la actividad de la enzima. Al contrario que la enzima empleada a la escala industrial, el contenido de sorbitol en la xilosa isomerasa cristalina conforme al invento es de < 1 %. Condicionado por un contenido de sorbitol situado por debajo de 1 %, con la composición conforme al invento se puede alcanzar un aumento digno de mencionarse de la actividad. El perjuicio para la estabilidad, que se debe de temer debido a la ausencia de sorbitol, se mostró de modo sorprendente como inadecuado para perjudicar decisivamente a la mejor funcionalidad del invento.

Apoyando a la xilosa isomerasa se puede utilizar también la manosa isomerasa para la transformación de fructosa en manosa. Ésta es resorbida asimismo en el intestino delgado tal como se ha esbozado más arriba y de este modo es sustraída del equilibrio de reacción.

La cristalización de la xilosa isomerasa se efectúa según unos procedimientos, que son suficientemente conocidos dentro del estado de la técnica (véanse las citas de Suzuki Y y colaboradores, J Phys Chem B. 109(8) 2005: 3222-6; Dunlop KV y Hazes B, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 61 2005: 1041-8; Vilonen KM y colaboradores, Biotechnol. Prog. 20(5) 2004: 1555-60; Ramagopal UA y colaboradores, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 59 2003: 868-75.

Con el fin de alcanzar una alta actividad enzimática en la región intestinal, en particular en el intestino delgado, la composición comprende por lo menos una sal fisiológicamente compatible de un cierto metal y/o de un metal alcalino-térreo, siendo el metal preferentemente divalente. Puesto que la xilosa isomerasa, en presencia de iones de ciertos metales y/o de metales alcalino-térreos, tiene una actividad enzimática aumentada, en la composición conforme al invento se prevén unas correspondientes sales. Se prefiere en particular cristalizar concomitantemente a la xilosa isomerasa con las sales arriba expuestas. De esta manera se pueden incorporar en los cristales ciertos cofactores en el centro activo de la enzima, y éstos ya se presentan por consiguiente en el retículo cristalino (junto al agua de cristalización, entre otras formas). Por lo tanto, los iones y los cofactores ya no tienen que estar presentes adicionalmente en la solución de reacción (= el lumen intestinal). Conforme al invento, la composición puede comprender por lo menos 2, por lo menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o incluso por lo menos 15 diferentes tipos de sales de metales o respectivamente de metales alcalino-térreos.

De acuerdo con una forma preferida de realización del presente invento, el metal alcalino-térreo es el magnesio.

La composición conforme al invento comprende la sal del metal alcalino-térreo en la composición en una relación molar con respecto a la xilosa isomerasa de 0,5:1 hasta 200:1, de manera preferida de 5:1 hasta 25:1, de manera todavía más preferida de 12:1 hasta 18:1.

De acuerdo con otra forma preferida de realización del presente invento, el metal es cobalto, manganeso, zinc, hierro o cobre, estando su sal en la composición en una relación molar con respecto a la xilosa isomerasa de 0,1:1 hasta 100:1, de manera preferida de 0,5:1 hasta 20:1, de manera especialmente preferida de 3:1 hasta 7:1.

Como un anión para estas sales sirve un anión farmacéuticamente compatible, de manera preferida escogido entre el conjunto que se compone de los de cloruro, sulfato, carbonato, hidrógenocarbonato o maleatos.

De acuerdo con una forma especialmente preferida de realización del presente invento, la por lo menos una sal se escoge entre el conjunto que se compone de $MgCl_2$, $MgSO_4$, $MgCO_3$, $Mg(HCO_3)_2$, $Mg(C_4H_2O_4)$, $CoCl_2$, $CoSO_4$, $CoCO_3$, $Co(HCO_3)_2$, $Co(C_4H_2O_4)$, $MnCl_2$, $MnSO_4$, $MnCO_3$, $Mn(HCO_3)_2$ o $Mn(C_4H_2O_4)$.

En una forma especialmente preferida de realización, la composición conforme al invento comprende unas sales de magnesio y/o cobalto. Se prefieren muy especialmente unas composiciones conformes al invento que contienen unas sales tanto de Mg como también de Co. La combinación de estas dos sales se ha manifestado como especialmente adecuada para el tratamiento de la malabsorción de fructosa.

De acuerdo con una forma preferida de realización del presente invento, los cristales de la xilosa isomerasa se utilizan como un polvo fino secado. El polvo de enzima es más estable frente a una degradación por bacterias y tiene ciertas ventajas a gran escala técnica en la granulación por compresión en lo que respecta a la elaboración, tales como una mejor dosificabilidad y una mejor miscibilidad.

El polvo de xilosa isomerasa tiene, de manera preferida, un contenido residual de agua de 0,1 % a 30 %, de manera especialmente preferida de 0,5 % a 10 % y de manera muy especialmente preferida de 1 % a 3 %. El contenido de proteínas en el polvo es de manera preferida de 50 % a 99,9 %, de manera especialmente preferida de 75 % a 99,9 %, de manera muy especialmente preferida de 95 % a 99,9 %. El tamaño de partículas del polvo es de 0,01 μm a 1.000 μm , de manera preferida de 0,1 μm a 100 μm y de manera especialmente preferida de 1 μm a 30 μm .

La composición de xilosa isomerasa producida y puesta a disposición conforme al invento es de manera preferida "muy activa". Esta composición "muy activa" de xilosa isomerasa tiene preferiblemente una actividad enzimática de 35.000 a 45.000 unidades por gramo (la formulación global). En este caso, una unidad (en inglés Unit (U)) se define como los μmol (micromoles) por gramo por hora a 37°C (35.000 o respectivamente 45.000 U corresponden a 9,72 o respectivamente 12,5 mili-Katal (μkat ; $kat = mol/s$). Al contrario que esto, una xilosa isomerasa procedente de un material liofilizado o respectivamente p.ej. purificada directamente desde una columna, tiene una actividad de aproximadamente 4.000 a 6.000 U/g (determinada según la cita de Dische y colaboradores, J. Biol. Chem. (1961)192:583), por lo tanto de 1,1 a 1,7 mkat.

De acuerdo con otra forma preferida de realización del presente invento, se emplea y se pone a disposición una forma de presentación resistente al jugo gástrico que se escoge entre un gránulo resistente al jugo gástrico, una cápsula resistente al jugo gástrico, un granulado resistente al jugo gástrico, una gragea resistente al jugo gástrico y un polvo resistente al jugo gástrico para la administración a seres humanos.

Conforme al invento se puede utilizar cualquier tipo de formas de presentación, siempre y cuando que éstas aseguren una rápida y eficaz liberación de la actividad en el sitio objetivo. En una forma preferida de realización, las formas de presentación conformes al invento pueden ser provistas de por lo menos un revestimiento, de manera especialmente preferida de un revestimiento resistente al jugo gástrico. Estos revestimientos se aplican de manera preferida en una proporción de 1 a 50 % en peso, referida al peso total de las formas de presentación. Son especialmente ventajosos unos copolímeros de ácido metacrílico y un (met)acrilato de alquilo, de manera especialmente preferida unos copolímeros de ácido metacrílico y metacrilato de metilo en una relación de 1:1 a 1:2

tales como Eudragit L® o Eudragit S®, de manera muy especialmente preferida unos copolímeros de ácido metacrílico y acrilato de etilo 1:1, tales como Eudragit L55®, Eudragit L30D-55®, que se disuelven rápidamente a un valor del pH de > 5,5. Por lo demás, se pueden aplicar unos revestimientos resistentes al jugo gástrico, que están constituidos sobre la base de celulosas o constituidos sobre la base de una goma laca, que son conocidos para un experto en la especialidad. La aplicación de los revestimientos se puede efectuar con unas correspondientes soluciones o dispersiones en un medio orgánico o acuoso, prefiriéndose un medio acuoso. Las formas de presentación resistentes al jugo gástrico son de manera preferida también resistentes frente a la saliva, adecuándose para esto de manera preferida unos revestimientos que están constituidos sobre la base de Eudragit E o Eudragit EPO.

Conforme al invento, por el concepto de "jugo gástrico" se entienden tanto la composición natural del jugo gástrico así como también las formulaciones artificiales (de pH 1-2) similares al jugo gástrico, que son conocidas para un experto en la especialidad. Asimismo, por el concepto de "liberación en el intestino delgado" se entienden tanto la liberación en el jugo natural del intestino delgado como también la liberación en unas formulaciones similares al jugo del intestino delgado, a unos valores del pH de 6-7,5, de manera preferida a un pH de 6,4-6,8.

Conforme al invento, por el concepto de "resistente al jugo gástrico" se designa la propiedad de una forma de presentación, que es capaz de proteger a una sustancia activa contenida en ella (p.ej. la xilosa isomerasa), en el caso de la acción de un jugo gástrico o respectivamente de una solución, que tiene unas propiedades comparables a las del jugo gástrico (p.ej. un ácido), durante un determinado período de tiempo de por lo menos 10, de manera preferida de por lo menos 20, de manera todavía más preferida de por lo menos 30, en particular de por lo menos 60 minutos, de tal manera que la sustancia activa experimente una pérdida de actividad de como máximo 50 %, de manera preferida de como máximo 40 %, de manera todavía más preferida de como máximo 30 %, de manera sumamente preferida de como máximo 20 %, en particular de como máximo 10 %.

Las preferidas formas de administración se preparan mezclando, granulando, extrudiendo, desmenuzando y eventualmente moldeando las sustancias de partida con el preparado enzimático conforme al invento, de manera preferida éstas son esferonizadas, eventualmente clasificadas y provistas de un revestimiento resistente al jugo gástrico.

Unos gránulos resistentes al jugo gástrico son unos gránulos que están envueltos con un revestimiento resistente al jugo gástrico, que se disuelven a un valor del pH tal como el que se puede encontrar en el tracto intestinal. Es decir, tales revestimientos se disuelven por consiguiente de manera preferida a un valor del pH de por lo menos 4 y de como máximo 10. Un Eudragit, por ejemplo, un revestimiento resistente al jugo gástrico, que está basado en unos polímeros aniónicos de ácido metacrílico y unos metacrilatos, contiene -CO-OH como un grupo funcional y se disuelve en el intervalo de desde pH 5,5 hasta pH 7. Alternativamente a un Eudragit, se pueden emplear goma laca o un almidón acetilado (p.ej. Amprac 01). Puesto que los revestimientos resistentes al jugo gástrico, que son conocidos dentro del estado de la técnica, tienen diversas propiedades (p.ej. el valor del pH en el caso del que se disuelve el revestimiento, la velocidad de disolución) también se pueden combinar los materiales de los revestimientos. La goma laca, por ejemplo, muestra una buena resistencia frente a ácidos, pero se disuelve muy lentamente en el tracto intestinal. El Amprac 01, por el contrario, se disuelve rápidamente en el medio intestinal, pero no manifiesta una suficiente resistencia frente a los ácidos. Con el fin de compensar las desventajas de un sólo material, los dos materiales arriba mencionados, se pueden mezclar en una ponderal de 60-95/40-5, de manera preferida de 70-90/30-10, de goma laca / Amprac 01. Otro parámetro, que influye sobre la velocidad de liberación de la sustancia activa, es el espesor de capa del gránulo resistente al jugo gástrico. El espesor de capa, expresado como la relación másica, es en este caso de manera preferida de 5 a 30 %, de manera todavía más preferida de 10 a 30 % de la masa global del producto final. Los gránulos tienen, de manera preferida, un diámetro promedio de 0,5 a 5 mm, en particular de 0,7 a 2 mm. Un tal tamaño tiene la ventaja de que los gránulos pueden atravesar rápidamente el estómago.

La producción de los gránulos, que permite el empleo del preparado enzimático conforme al invento como un medicamento, un agente de complemento nutritivo, un alimento dietético, un producto médico, un pienso, un pienso complementario o un pienso dietético, se efectúa de manera preferida con una extrusora, que hace necesaria una estabilidad térmica de las sustancias constituyentes de la composición, en particular de las enzimas, de hasta 60°C (Stricker Arzneiformenentwicklung (Desarrollo de formas medicamentosas de Stricker), editorial Springer 2003). Los gránulos, junto a un revestimiento resistente al jugo gástrico y a las enzimas, pueden comprender otras sustancias aditivas farmacéuticas. Por ejemplo, una celulosa microcristalina (p.ej. Avicel) sirve como un material de relleno y como un material hinchable. Una celulosa es insoluble en agua, y tiene en esta forma unas porciones tanto cristalinas como también amorfas. Esta combinación da lugar a una deformabilidad plástica, es decir, que en el caso de una fuerza suficientemente alta, se establece una modificación irreversible de la forma. Esto constituye una premisa esencial para la granulación en la extrusora y en el aparato esferonizador. En el caso de la granulación en húmedo, la celulosa microcristalina absorbe grandes cantidades de agua, y de esta manera, incluso sin la adición de agentes aglutinantes, ella se vuelve una masa coherente, bien comprimible. La proporción de una celulosa microcristalina en un gránulo puede estar situada conforme al invento entre 5 y 70 %, de manera preferida entre 10 y 60 %, de manera todavía más preferida entre 15 y 50 %. Como agente aglutinante y agente de relleno se puede utilizar maltosa. La maltosa aumenta la solubilidad de la matriz y apoya de esta manera la rápida liberación de la

enzima. La maltosa se puede añadir a un gránulo de una manera conforme al invento en un 1 hasta 40 %, de manera preferida en un 5 hasta 35 %, de manera todavía más preferida en un 10 hasta 30 %.

La maltosa tiene, en comparación con la sacarosa utilizada usualmente, la ventaja de que ella no contiene nada de fructosa, y de que, por consiguiente, no puede incorporar en el cuerpo nada de fructosa innecesaria y a su vez nociva.

La hidroxipropilcelulosa (añadida en una proporción de preferiblemente 0,5 a 10 %) se puede añadir asimismo como un agente aglutinante y sirve para evitar la generación de polvo fino. Además, la hidroxipropilcelulosa aumenta la solidez de los gránulos y contribuye, por consiguiente, a su vez, al mejoramiento del rendimiento. Un almidón se puede añadir como un agente de relleno y disgregante al gránulo conforme al invento (en una proporción preferida de 1 a 30 %). Como una sustancia insoluble en agua, el almidón puede absorber una gran cantidad de agua, y es por lo tanto un agente disgregante ideal. La Croscarmelosa (Na-CMC; Acdisol) es un agente disgregante puro, que se puede emplear de manera preferida en una proporción comprendida entre 1 % y 5 %. Una proporción demasiado alta de Acdisol conduce a una desintegración prematura de los gránulos ya al realizar el redondeo (es decir la esferonización) y es, por ello, contraproducente. La Crospovidona, que es una PVP reticulada, es asimismo insoluble en agua y sirve asimismo como un agente disgregante. A causa de sus propiedades poliméricas, ella apoya al mejor redondeo al realizar la producción del gránulo (ella se puede añadir de manera preferida en una proporción de 0,5 a 10 %). La Povidona es un aditivo soluble en agua y sirve como un agente aglutinante. La combinación de estos diferentes agentes de relleno, disgregantes y aglutinantes conduce a una distribución dispersa molecularmente de la xilosa isomerasa en el gránulo y asegura una rápida biodisponibilidad.

Entre el revestimiento resistente al jugo gástrico y el gránulo que contiene la sustancia activa puede estar prevista una capa aislante a base de glicerol y/o talco. El glicerol sirve como un agente humectante, con el fin de evitar una deshidratación y por consiguiente una desactivación de la enzima.

Puesto que las partículas con un diámetro más grande que 3 mm provocan en el píloro un reflejo de oclusión, es especialmente preferido que las formas de presentación resistentes al jugo gástrico, en particular los gránulos, abandonen el estómago con un tamaño de menos que 3 mm, puesto que tales partículas pueden atravesar el píloro en estado cerrado y pueden ser transportadas ulteriormente igual que un líquido desde el estómago al intestino delgado. El valor del pH neutro, que se presenta allí, da lugar a que los gránulos se revienten en el transcurso de aproximadamente 5 a 30 min, de manera preferida de 15 min, y pongan en libertad por consiguiente a las sustancias activas. Por lo tanto, es especialmente preferido prever, como una forma de presentación resistente al jugo gástrico, unos gránulos que tengan un diámetro de menos que 5 mm, de manera preferida de menos que 3 mm.

Alternativamente a unos gránulos, la xilosa isomerasa se puede transportar en el tracto intestinal a través del estómago también en cápsulas o en otra forma de presentación cualquiera. Unas cápsulas adecuadas son, en este caso, p.ej. unas cápsulas de gelatina o unas cápsulas de almidón. Las cápsulas pueden contener también los gránulos conformes al invento.

De acuerdo con una forma especialmente preferida de realización del presente invento, la xilosa isomerasa se presenta en forma de microcápsulas, nanopartículas o liposomas.

De acuerdo con una forma preferida de realización, la xilosa isomerasa es de procedencia microbiana, animal, vegetal o recombinante.

Las enzimas utilizadas conforme al invento pueden ser de la procedencia más diversa. Unos procedimientos con los que se pueden aislar y/o producir las enzimas son suficientemente conocidos para un experto en la especialidad.

Se prefiere en particular utilizar una xilosa isomerasa de procedencia microbiana, que procede de un microorganismo de la familia de los estreptomicetos, en particular de *Streptomyces rubiginosus*. Las xilosa isomerasas de tales fuentes tienen una actividad específica más alta en cuanto a glucosa/fructosa y un valor de Km más pequeño que las isomerasas de otras fuentes. Así, la xilosa isomerasa tiene en *Lactobacillus brevis* un valor de Km de 920 mM, y en *Str. rub.* un valor de Km de 160 mM.

La composición conforme al invento se puede emplear en forma de los productos más diversos. De manera preferida, la composición es una composición farmacéutica, un agente de complemento nutritivo, un alimento dietético, un producto médico, un pienso, un pienso complementario o un pienso dietético.

Otro aspecto del presente invento se refiere a una composición que comprende una xilosa isomerasa cristalina (EC 5.3.1.5) y por lo menos una sal de un cierto metal y/o de un metal alcalino-térreo, en una forma de presentación resistente al jugo gástrico, que se escoge en particular entre el conjunto que se compone de un gránulo resistente al jugo gástrico, de una tableta resistente al jugo gástrico, de una cápsula resistente al jugo gástrico, de un granulado resistente al jugo gástrico y de un polvo resistente al jugo gástrico.

En el caso de la aplicación por vía oral, el medicamento que contiene la xilosa isomerasa conforme al invento debería ser ingerido por el consumidor antes del o para el consumo de alimentos que contienen fructosa, con el fin

de garantizar una rápida isomerización. Puesto que unas partículas con un diámetro mayor que 3 mm provocan en el píloro un reflejo de oclusión, se prefiere que las formas de presentación que son resistentes al jugo gástrico abandonen el estómago con un tamaño de menos que 3 mm, puesto que tales partículas pueden atravesar el píloro en el estado cerrado y son transportadas igual que un líquido desde el estómago al intestino delgado. El valor del pH neutro allí existente da lugar a que los gránulos se revientan, por ejemplo, en el transcurso de aproximadamente 5 a 30 min, de manera preferida de 15 min, y pongan en libertad por consiguiente a la xilosa isomerasa.

Otro aspecto del presente invento se refiere a un procedimiento para la producción de una composición de acuerdo con el presente invento, que comprende la etapa de la cristalización de la xilosa isomerasa en presencia de por lo menos una sal de un metal alcalino-térreo y/o de un cierto metal, siendo la xilosa isomerasa cristalina secada y eventualmente pulverizada y formulada como una forma de presentación farmacéutica, en particular escogida entre el conjunto que se compone de un gránulo resistente al jugo gástrico, una tableta resistente al jugo gástrico, una cápsula resistente al jugo gástrico, un granulado resistente al jugo gástrico y un polvo resistente al jugo gástrico.

La desecación se efectúa de manera preferida en un vacío y está organizada a) en una separación por filtración de los cristales a partir de la solución y a continuación b) en una liofilización de la torta del filtro. De manera preferida, la torta del filtro seca (con una humedad residual < 5 %) se muele a continuación, por ejemplo, con un molino para cereales.

Otro aspecto más del presente invento se refiere a la composición que es obtenible según un procedimiento de acuerdo con el presente invento.

El presente invento se explica más detalladamente con ayuda de las/los siguientes Figuras y Ejemplos, pero no obstante, sin estar restringido a éstas/os.

La Fig. 1 muestra la influencia del valor del pH sobre la actividad de la xilosa isomerasa.

La Fig. 2 muestra la estabilidad frente a los ácidos de la xilosa isomerasa. En el caso de unas condiciones de pH < 4, la actividad enzimática es destruida irreversiblemente.

La Fig. 3 muestra la estabilidad térmica de la actividad de la xilosa isomerasa muy activa conforme al invento en la forma preferida de realización de unos gránulos revestidos de un modo resistente al jugo gástrico.

La Fig. 4 muestra una comparación de la actividad de una xilosa isomerasa purificada mediante un proceso de cristalización con una xilosa isomerasa aislada.

La Fig. 5 muestra la influencia de unos iones de metales divalentes sobre la actividad de la xilosa isomerasa.

La Fig. 6 muestra la influencia de la cristalización concomitante de la xilosa isomerasa con unos iones de metales divalentes sobre la actividad de la xilosa isomerasa.

La Fig. 7 muestra el efecto in vivo de la xilosa isomerasa a lo largo del tiempo en comparación con un placebo y sin la administración de ningún agente.

Ejemplos:

Ejemplo 1:

Con el fin de asegurar una biodisponibilidad fisiológica eficaz de la enzima en la región intestinal de un individuo o animal es ventajoso transportar la xilosa isomerasa protegida de un modo resistente al jugo gástrico hasta el intestino delgado. La base para el desarrollo de una correspondiente receta es la comprobación de la dependencia de la actividad de la enzima con respecto del valor del pH (Fig. 1) y de la estabilidad de la enzima a determinados valores del pH (Fig. 2). La dependencia con respecto del valor del pH de la actividad de la glucosa isomerasa se midió en maleato, Hepes o tampón Tris 50 mM desde un pH de 5 a un pH 9, con MgSO_4 5 mM, CoCl_2 1 mM y glucosa 100 mM, a 37°C. La fructosa resultante se midió con un ensayo modificado que usa ácido sulfúrico y carbazol según Dische y Bohrenfreund (Dische, Z y colaboradores: J Biol Chem. (1951) 192:583). Para evaluar la estabilidad se incubó una cantidad definida de la enzima durante 30' en un tampón de glicina, maleato o Hepes 50 mM, con un valor del pH de 2 hasta 7 a 37°C. El tampón se neutralizó con un exceso de un tampón de Hepes 100 mM de pH 7,4, y la actividad se midió en presencia de MgSO_4 5 mM, CoCl_2 1 mM y glucosa 100 mM a 37°C. La fructosa resultante se midió con un ensayo modificado que usa ácido sulfúrico y carbazol según Dische y colaboradores.

Ejemplo 2:

Estabilidad térmica de la actividad de la xilosa isomerasa muy activa conforme al invento en la forma preferida de realización de unos gránulos revestidos de un modo resistente al jugo gástrico. La estabilidad de los gránulos de enzimas es muy importante para el almacenamiento y la venta. Se tiene que alcanzar una suficiente estabilidad de la actividad con el fin de poder exhibir una durabilidad aceptable para el comercio. Los gránulos revestidos se almacenaron durante 7 días a 4°C, 37°C y 50°C y se midió la actividad en condiciones patrón. La actividad disminuyó después de 7 días a 37°C en un 25 % y después de 7 días a 50°C en un 77 % (Fig. 3).

Ejemplo 3:

Comparación de la actividad de una xilosa isomerasa purificada mediante un proceso de cristalización con la de la xilosa isomerasa aislada.

Se obtuvo a gran escala técnica la xilosa isomerasa procedente de *Streptomyces rubiginosus*. Esta xilosa isomerasa adquirible comercialmente se purificó mediante un proceso de cristalización con respecto del sorbitol y de otros aditivos. De esta manera se pudo alcanzar un aumento de la actividad de un 70 %. La actividad de la suspensión de cristales obtenida en el Ejemplo 1 y la actividad de la solución de partida se midieron en condiciones patrón. En este caso resultó un aumento promedio de la actividad en un 70 % (Fig. 4).

Ejemplo 4: Influencia de unos iones de metales divalentes sobre la actividad de la xilosa isomerasa.

Una xilosa isomerasa purificada sin la adición de iones de metales divalentes se mezcló con diferentes concentraciones de Mg^{2+} y Co^{2+} y se midió la actividad en un tampón fosfato 50 mM de pH 7,4 y glucosa 100 mM a 37°C. En este caso resultó un aumento de la actividad de un 300 % (Fig. 5).

Ejemplo 5: Influencia de la cristalización concomitante de la xilosa isomerasa con unos iones de metales divalentes sobre la actividad de la xilosa isomerasa.

La xilosa isomerasa se cristalizó igual a como en el Ejemplo 1 con o sin Mg^{2+} y Co^{2+} , y se midió la actividad en un tampón fosfato 50 mM de pH 7,4 sin iones de metales divalentes, con glucosa 100 mM, a 37°C. En este caso, resultó una actividad específica de los cristales con iones de metales divalentes de 300 % comparada con unos cristales sin iones de metales incorporados (Fig. 6).

Ejemplo 6: Cristalización de la xilosa isomerasa en presencia de unos cofactores

51 de una solución de xilosa isomerasa se mezclan con 735 g de sulfato de amonio, 72 g de sulfato de magnesio hexahidrato y 19,4 g de cloruro de cobalto(II) hexahidrato y se enfrían lentamente a 2°C y se agitan durante 20 h. Para efectuar una aceleración del proceso de cristalización se pueden añadir 50 ml de una suspensión al 4 % de cristales de xilosa isomerasa. Los cristales resultantes deberían tener un tamaño óptimo comprendido entre 50 µm y 100 µm.

Este modo de proceder corresponde aproximadamente a la cristalización mencionada en el documento US 4.699.822, pero en el presente caso se añaden $CoCl_2$ y los cristales de agentes iniciadores.

Ejemplo 7: Deseccación de los cristales de xilosa isomerasa

La suspensión de cristales de xilosa isomerasa que se había obtenido en el Ejemplo 1 se filtra a través de un filtro de pliegues de la clase 3hw (de Sartorius, Alemania). Los cristales obtenidos se congelan y se liofilizan. Para conseguir una óptima elaborabilidad, la torta sólida de enzima se muele finamente. El polvo de xilosa isomerasa resultante tiene típicamente una actividad de 45.000 Units (unidades) por gramo. Una unidad de la xilosa isomerasa se define como la actividad enzimática, que en un tampón fosfato 50 mM de pH 7,4, con $MgSO_4$ 5 mM, $CoCl_2$ 1 mM y glucosa 100 mM, a 37°C (en condiciones normalizadas) transforma por hora 1 µmol (180 µg) de glucosa en fructosa.

Ejemplo 8: Producción de gránulos de xilosa isomerasa

a) Granulación

31,4 g de hidroxipropilcelulosa, 408,7 g de una celulosa microcristalina, 169,5 g de un almidón de arroz, 15,6 g de Croscarmellose, 62,2 g de Crospovidona y 145,3 g de maltosa se mezclan con 167,1 g de un polvo de xilosa isomerasa (7.500.000 unidades). La mezcla de materiales sólidos se elaboró con 377 g de agua bidestilada para dar una masa húmeda, desmoronable. Esta masa se extruyó a través de un tamiz con una amplitud de poros de 1 mm para formar unos cordones (Caleva Extruder 10/25, de Caleva Process Solutions Ltd.)

b) Esferonización:

Los cordones húmedos se voltearon en un aparato esferonizador (Spheronizer 250, de Caleva Process Solutions Ltd.) a 400 rpm (revoluciones por minuto) durante 5 minutos para formar unos gránulos. Después de esto, los gránulos se secaron a 35°C hasta la constancia de peso sobre unas parrillas.

c) Clasificación:

Los gránulos secados se clasificaron en una torre de tamizado, siendo adecuada para el tratamiento ulterior la fracción situada en el intervalo de tamaños de 0,4 a 0,8 mm.

d) Caracterización de los gránulos:

El rendimiento global fue de 70 %.

La investigación de la liberación en el dispositivo de ensayo de disolución condujo a una liberación de un 85,8 % de la actividad, en el intervalo de 5 minutos, y de un 97,5 % de la actividad incorporada, en el intervalo de 15 minutos, al entorno más próximo. Mediante esta rápida liberación de la enzima en un corto período de tiempo se alcanza un rápido efecto en el tracto gastrointestinal después de una ingestión por vía peroral.

e) Proceso de revestir a los gránulos:

A causa de su estructura proteínica, la xilosa isomerasa es desactivada ampliamente en el estomago por la pepsina y por un valor ácido del pH. Por ello, una protección de la enzima por medio de un revestimiento resistente al jugo gástrico o respectivamente por medio de una matriz aniónica resistente al jugo gástrico, es una premisa para el mantenimiento de la actividad enzimática.

Solución de revestimiento: 1,9 kg de un almidón acetilado se disolvieron en 15,2 kg de agua purificada mediando agitación (suspensión 1). En otros 100 kg de agua purificada se agitaron con una Ultraturrax hasta la disolución 10,9 kg de la goma laca SSB 63 Hydram (suspensión 2). Las suspensiones 1 y 2 se mezclaron, y se añadieron 0,6 kg de glicerol al 85 % y 2,6 kg de un talco micronizado. Durante el proceso de atomización, la solución de revestimiento se agitó con una Ultraturrax.

Proceso de revestir: 1 kg de gránulos se revistió con 1,5 kg de una solución de revestimiento en un clasificador ciclónico. Los parámetros del aparato se escogieron como sigue: presión de atomización 1,6 bares, velocidad de atomización 180 g/minuto, temperatura del aire de entrada 55°C, temperatura del producto: 35°C, cantidad de aire de entrada 1.400 m³/h.

Después de la aplicación de la solución completa de atomización, los gránulos se secaron posteriormente durante 60 minutos a una temperatura del aire de entrada de 40°C.

g) Caracterización del producto:

Los gránulos revestidos correspondieron al ensayo de la resistencia al jugo gástrico según la Farmacopea Europea. Después de una incubación durante dos horas en el dispositivo de ensayo de desintegración a 37°C en ácido clorhídrico 0,1 N, los gránulos seguían inalterados, un intercambio del medio a tampón fosfato de pH 6,8 condujo en el transcurso de una hora a la desintegración de los gránulos resistentes al jugo gástrico. El revestimiento constituyó aproximadamente un 16 % del peso original. Los gránulos se pudieron utilizar como un producto previo para la producción de tabletas y cápsulas.

Ejemplo 9: Deseccación por atomización de la xilosa isomerasa

a) Producción de la solución de atomización:

5 g de acetato-ftalato de celulosa se añadieron a 80 g de agua y mediando agitación con una solución acuosa de amoníaco al 25 % se disolvió el acetato-ftalato de celulosa y se ajustó el valor de pH a 7,5. La solución se mezcló con 5 g de una solución acuosa de MgSO₄ 100 mM y se añadió la suspensión de cristales de xilosa isomerasa, que correspondió a una masa seca de la enzima de 1,25 g.

b) Deseccación por atomización:

Se utilizaron los siguientes ajustes: temperatura de entrada 130°C, temperatura de salida 90°C, velocidad de bombeo 1,5 ml/min, 800 l/h de aire a presión y -40 mbar de aspiración.

c) Caracterización del producto:

El rendimiento del producto fue de 50 %. La actividad permaneció conservada en un 90 %. El polvo de xilosa isomerasa correspondió a la comprobación de la resistencia al jugo gástrico según la Farmacopea Europea. Después de una incubación durante dos horas en el dispositivo de ensayo de la desintegración a 37°C en ácido clorhídrico 0,1 N, el polvo estaba inalterado, un intercambio del medio a un tampón fosfato de pH 6,8 condujo en el transcurso de una hora a una disolución completa del polvo. No obstante, en esta solución solamente se pudo medir un 5 % de la actividad enzimática original. Esto permite sacar la conclusión de que ciertamente había permanecido

conservada la estructura macroscópica del polvo (lo que exige la Pharm Eur), pero que se había perdido la actividad enzimática (lo que no constituye ningún criterio de la Pharm Eur).

Ejemplo 10: Actividad sintomática

En un estudio clínico, se instó a unos voluntarios con una malabsorción de fructosa diagnosticada, a reproducir en un cuestionario los trastornos subjetivos después de una determinada comida, que contiene fructosa. En un intervalo de aproximadamente 2 días, ellos tuvieron que ingerir esta comida en común con un número creciente de cápsulas que contenían xilosa isomerasa y se registró documentalmente la evolución de los síntomas.

Sorprendentemente, ya la aportación de una cápsula (= 920 Units de xilosa isomerasa) por comida condujo a una manifiesta mejoría de los síntomas, la ingestión de 2 cápsulas condujo en un 75 % de los voluntarios a una desaparición completa de los síntomas. En el caso de otro 13 %, los síntomas habían disminuido.

La cantidad ingerida en promedio de fructosa por comida en el estudio clínico fue de aproximadamente 7 g. Una unidad de la xilosa isomerasa se define como la cantidad de la enzima, que a un pH de 7,4 transforma por hora 1 μ mol (180 μ g) de glucosa en fructosa (y viceversa). Esto significa, que en el caso de un período de tiempo promedio de tránsito por el intestino delgado de una hora, 2 cápsulas degradan en total 0,33 g de fructosa en condiciones normalizadas en el laboratorio. Este valor alcanzado en el laboratorio está situado ampliamente por debajo de la cantidad ingerida en el estudio clínico de 7 g.

Por lo tanto, mediante la especial forma de presentación de la xilosa isomerasa muy activa se puede mejorar espectacularmente la compatibilidad de la fructosa y cuidar terapéuticamente con éxito el "Short bowel syndrom" (síndrome del intestino corto) y unos cuadros patológicos emparentados.

Ejemplo 11: Actividad clínica

A 5 personas, que reaccionaron a la provocación de 25 gramos de fructosa en 100 ml de agua con un significativo aumento del contenido de hidrógeno gaseoso en el aire que ellas respiraban, se les administraron inmediatamente antes de la provocación 3 cápsulas de la formulación conforme al invento. Durante las 4 horas subsiguientes no se pudo comprobar sorprendentemente apenas ningún aumento de la concentración de H₂ en el aire que ellas respiraban. La administración de unas cápsulas con un placebo no mostró ningún efecto sobre la producción de hidrógeno gaseoso en el aire que ellas respiraban. Estos datos confirman que la fructosa ingerida con la alimentación es transformada en glucosa por la formulación muy activa de xilosa isomerasa conforme al invento durante el paso por el intestino delgado de una manera tan eficiente, que ya no penetra ninguna cantidad fisiológicamente relevante de la fructosa en la región del intestino grueso. 25 g de fructosa corresponden aproximadamente a la cantidad ingerida por día con los alimentos. Por lo tanto, se administraron también 3 cápsulas de la formulación conforme al invento.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición que comprende una xilosa isomerasa (EC 5.3.1.5) cristalina y por lo menos una sal de un cierto metal y/o de un metal alcalino-térreo que está destinada a su utilización para el tratamiento de la malabsorción de fructosa.
2. Composición para la utilización de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** el cierto metal es un metal divalente.
- 10 3. Composición para la utilización de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, **caracterizada por que** el metal alcalino-térreo es magnesio.
- 15 4. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 3, **caracterizada por que** la sal del metal alcalino-térreo está contenida en la composición en una relación molar con respecto a la xilosa isomerasa de 0,5:1 hasta 200:1, de manera preferida de 5:1 hasta 25:1, de manera todavía más preferida de 12:1 hasta 18:1.
- 20 5. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 4, **caracterizada por que** el cierto metal es cobalto, manganeso, zinc, hierro o cobre.
- 25 6. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 5, **caracterizada por que** la sal del cierto metal en la composición está contenida en una relación molar con respecto a la xilosa isomerasa de 0,1:1 hasta 100:1, de manera preferida de 0,5:1 hasta 20:1, de manera especialmente preferida de 3:1 hasta 7:1.
- 30 7. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 6, **caracterizada por que** la por lo menos una sal se escoge entre el conjunto que se compone de MgCl_2 , MgSO_4 , MgCO_3 , $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4)$, CoCl_2 , CoSO_4 , CoCO_3 , $\text{Co}(\text{HCO}_3)_2$, $\text{Co}(\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4)$, MnCl_2 , MnSO_4 , MnCO_3 , $\text{Mn}(\text{HCO}_3)_2$ y $\text{Mn}(\text{C}_4\text{H}_2\text{O}_4)$.
- 35 8. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 7, **caracterizada por que** ésta se presenta en una forma de presentación resistente al jugo gástrico, que se escoge en particular entre el conjunto que se compone de un gránulo resistente al jugo gástrico, una tableta resistente al jugo gástrico, una cápsula resistente al jugo gástrico, un granulado resistente al jugo gástrico y un polvo resistente al jugo gástrico.
9. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 8, **caracterizada por que** la xilosa isomerasa se presenta en microcápsulas, nanopartículas o liposomas.
10. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 9, **caracterizada por que** la xilosa isomerasa es de procedencia microbiana, animal, vegetal o recombinante.
- 40 11. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 10, **caracterizada por que** la xilosa isomerasa de origen microbiano procede de un microorganismo de la familia de los estreptomicetos, en particular de *Streptomyces rubiginosus*.
- 45 12. Composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 11, **caracterizada por que** la composición es una composición farmacéutica, un agente de complemento nutritivo, un alimento dietético, un producto médico, un pienso, un pienso complementario o un pienso dietético.
- 50 13. Composición que comprende una xilosa isomerasa (EC 5.3.1.5) cristalina y por lo menos una sal de un cierto metal y/o de un metal alcalino-térreo en una forma de presentación resistente al jugo gástrico, que se escoge en particular entre el conjunto que se compone de un gránulo resistente al jugo gástrico, una tableta resistente al jugo gástrico, una cápsula resistente al jugo gástrico, un granulado resistente al jugo gástrico y un polvo resistente al jugo gástrico.
- 55 14. Procedimiento para la producción de una composición para la utilización de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 hasta 13, que comprende una etapa de cristalización de la xilosa isomerasa en presencia de por lo menos una sal de un metal alcalino-térreo y/o de un cierto metal, siendo la xilosa isomerasa cristalina secada y eventualmente pulverizada, y siendo formulada como una forma de presentación farmacéutica, en particular escogida entre el conjunto que se compone de un gránulo resistente al jugo gástrico, una tableta resistente al jugo gástrico, una cápsula resistente al jugo gástrico, un granulado resistente al jugo gástrico y un polvo resistente al jugo gástrico.
- 60 15. Composición para la utilización, obtenible según un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 14.

Fig. 1

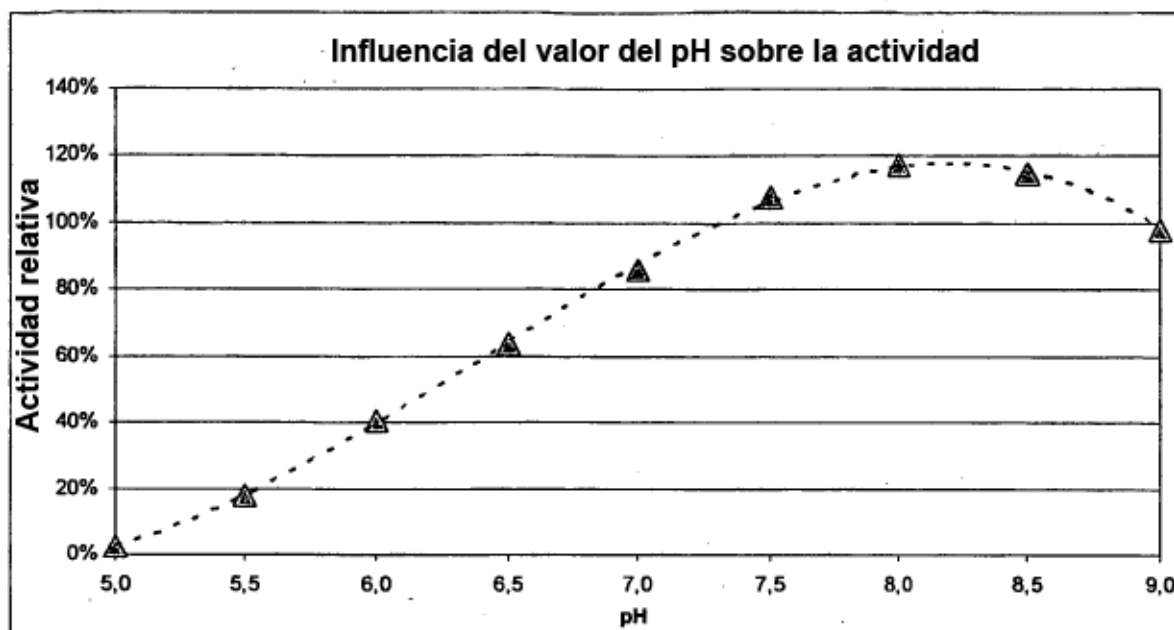


Fig. 2

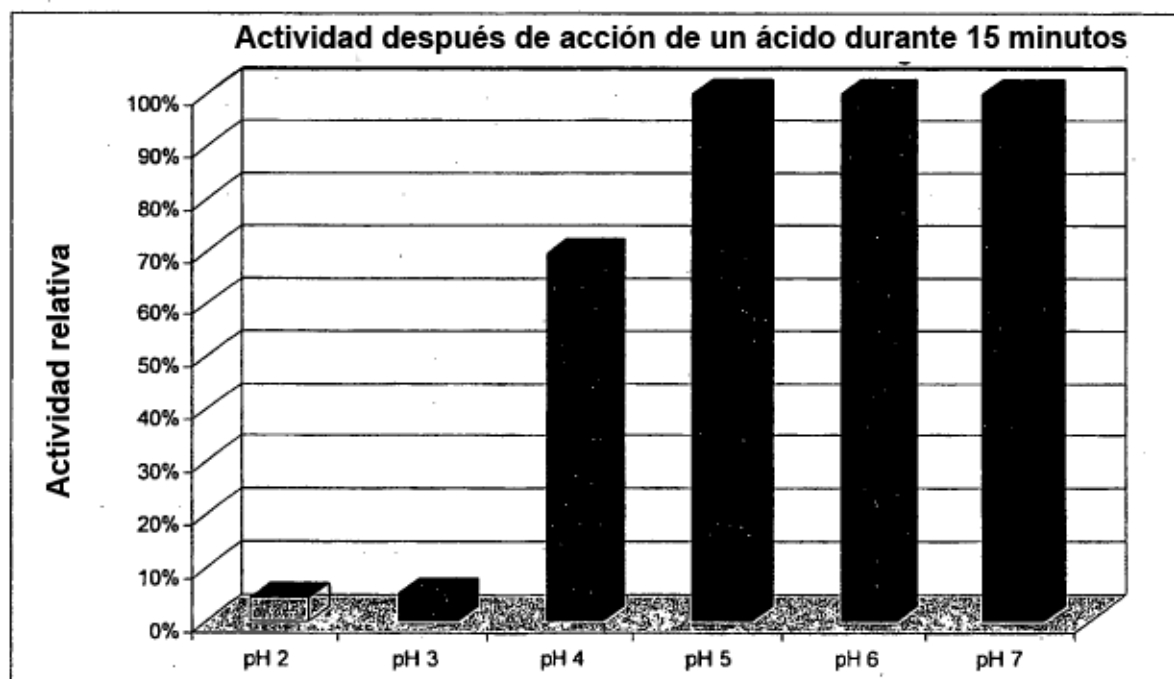


Fig.3

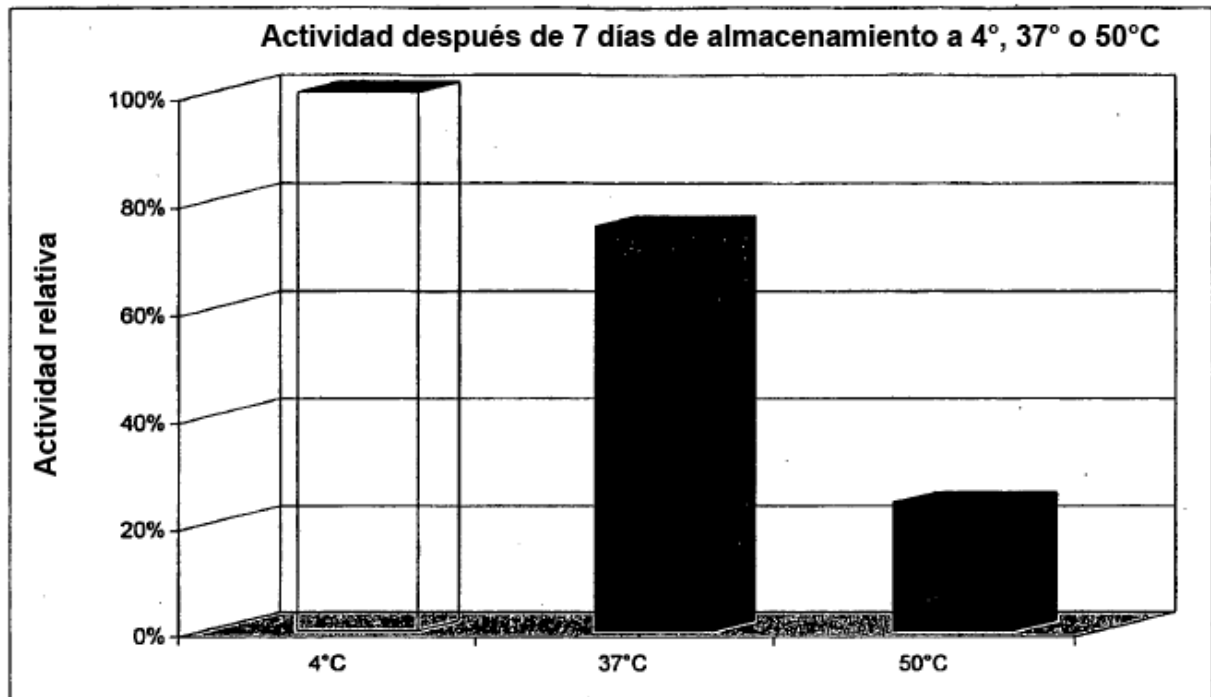


Fig. 4

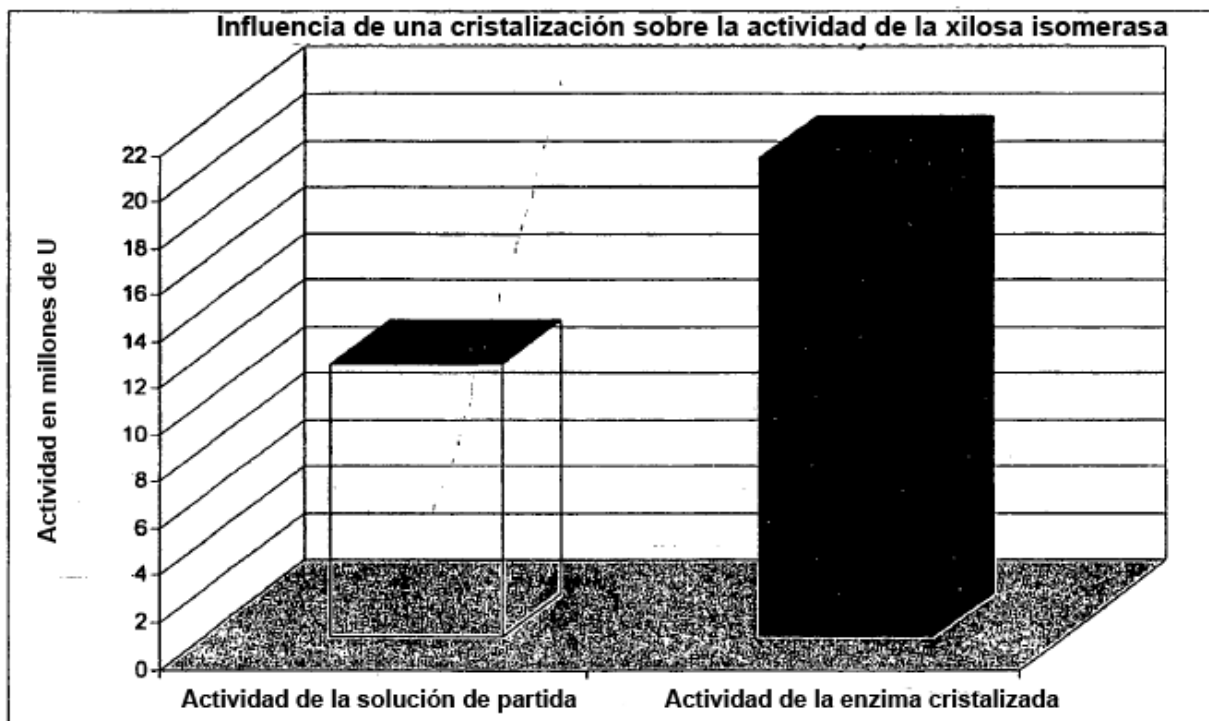


Fig. 5

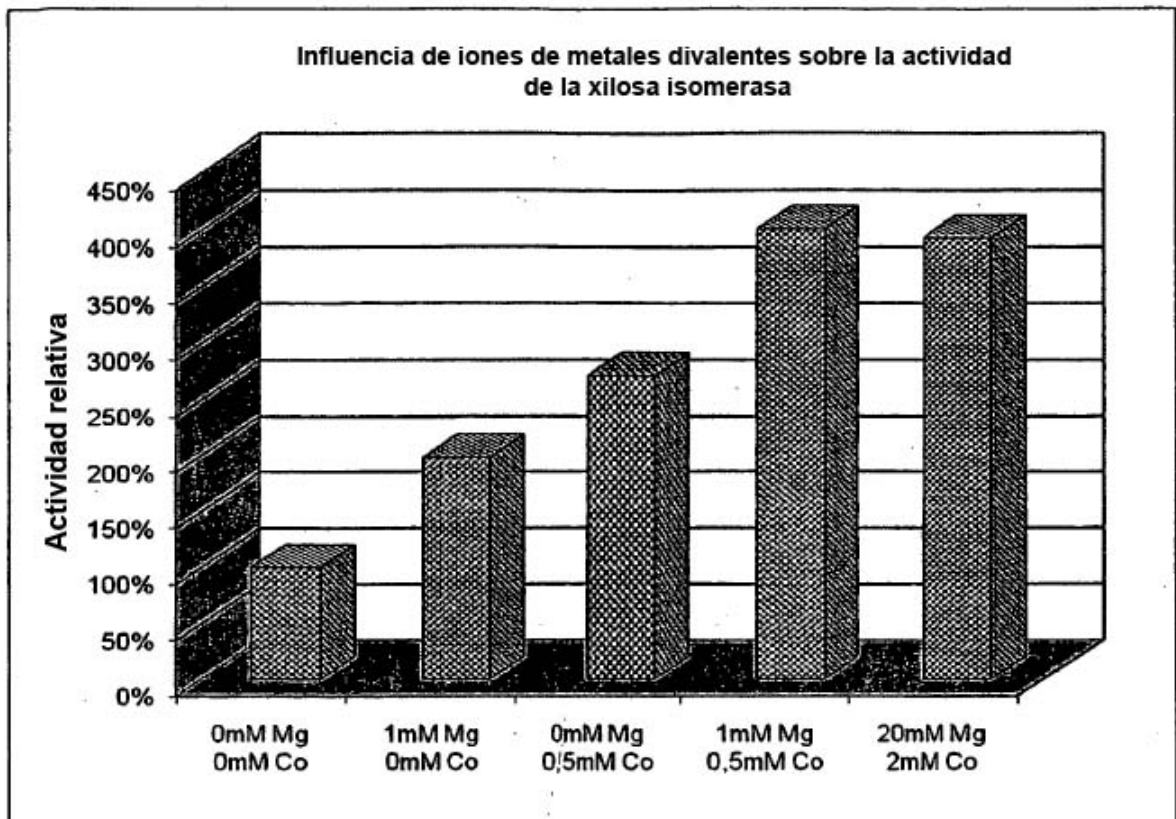


Fig. 6

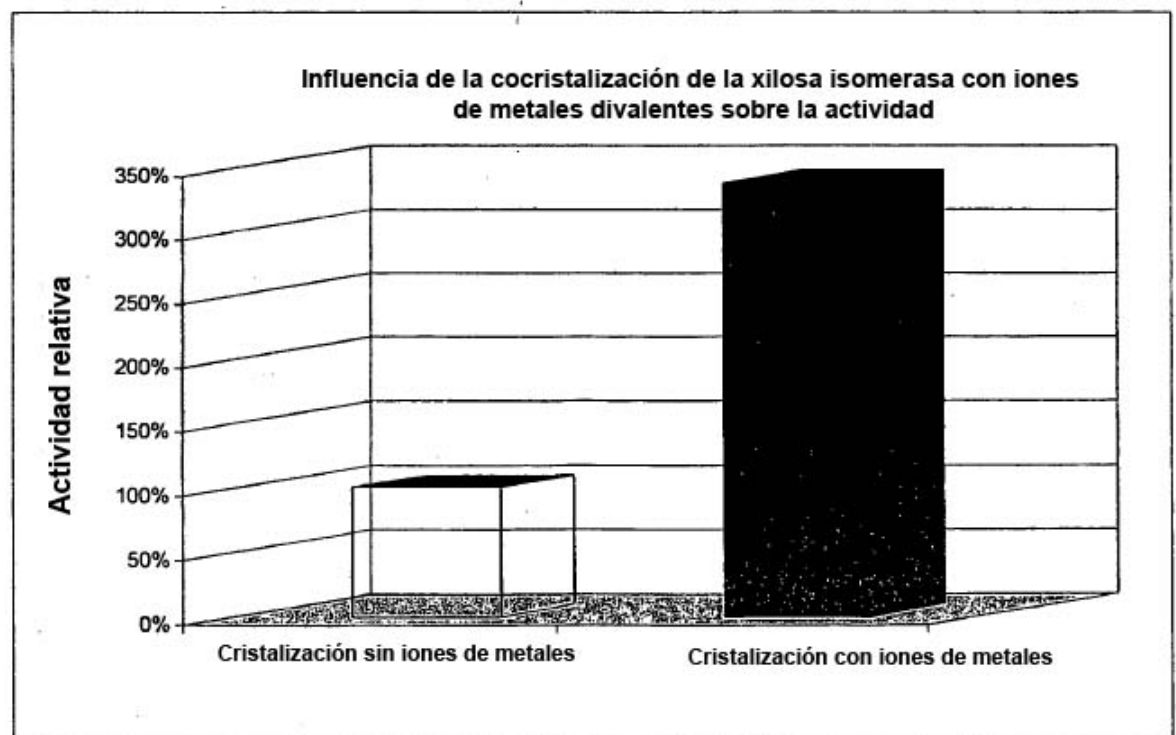


Fig. 7

