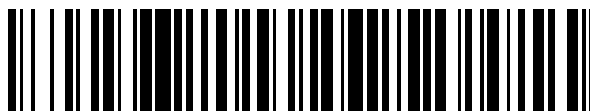


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 134**

51 Int. Cl.:

A23L 1/22 (2006.01)
A23L 1/236 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A61K 31/7004 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A23L 2/60 (2006.01)
A23L 1/09 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.06.2012 E 12173112 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.10.2015 EP 2537422**

54 Título: **Agente que prolonga la esperanza de vida**

30 Prioridad:

24.06.2011 JP 2011140146
02.03.2012 JP 2012046942

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.12.2015

73 Titular/es:

**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION
KAGAWA UNIVERSITY (33.3%)
1-1, Saiwai-cho
Takamatsu-shi, Kagawa 760-8521, JP;
MATSUTANI CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD.
(33.3%) y
IZUMORING CO. LTD. (33.3%)**

72 Inventor/es:

**SATO, MASASHI;
OKUMA, KAZUHIRO y
IZUMORI, KEN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 555 134 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

Agente que prolonga la esperanza de vida

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a agentes que prolongan la esperanza de vida de una composición de azúcar utilizable como edulcorante. Más específicamente, la invención se refiere a un agente que prolonga la esperanza de vida de una composición de azúcar que contiene D-psicosa y/o D-alosa utilizable como edulcorante.

Descripción de la técnica relacionada

15 El envejecimiento se ha convertido en un grave problema social en Japón y otros países desarrollados. Entre los diversos factores asociados al control de la esperanza de vida y el envejecimiento, la restricción calórica es el más prometedor para prolongar de la esperanza de vida, y se ha confirmado el efecto de la restricción calórica en un amplio intervalo de especies biológicas desde nematodos a mamíferos (véase, por ejemplo, Youichi Nabeshima, "The Biology of Aging", Medical Science International (2000) pág. 287). Sin embargo, restricción calórica significa
20 reducir la toma de alimento diaria y no es un enfoque realista.

A pesar de numerosos estudios, el prolongar la esperanza de vida no se ha entendido totalmente. Se ha sugerido que el efecto retardante del fenómeno de envejecimiento no es sinónimo del efecto prolongador de la esperanza de vida. Por ejemplo, se ha mostrado mediante experimentos animales que la vitamina E tiene el efecto de retardar los
25 fenómenos de envejecimiento. Sin embargo, los estudios dirigidos a encontrar el efecto prolongador de la esperanza de vida esperado de la vitamina E en ratones y ratas no han encontrado un claro efecto prolongador de la esperanza de vida con vitamina E (documento JP-A-8-176006).

Hay informes referentes a la prolongación de la esperanza de vida. Por ejemplo, el documento JP-A-2007-197374 reseña que el polifenol derivado de fruta (manzana) previene la insuficiencia cardíaca o la insuficiencia cardíaca congestiva, y prolonga la esperanza de vida de un ratón modelo con insuficiencia cardíaca congestiva. El documento JP-A-2005-210978 reseña que composiciones oleosas y grasas de propiedades específicas que contienen ácido α -linolénico y ácido linoleico pueden prolongar la esperanza de vida de ratas propensas a apoplejía. Estos efectos
30 prolongadores de la esperanza de vida se encuentran en ratones modelo con enfermedades específicas y en ratones con dieta rica en calorías, y se cree que prolongan la esperanza de vida al prevenir o tratar enfermedades o condiciones patológicas específicas.

Se reseñan composiciones que contienen un quitosano específico (documento JP-A-2005-289839), peroxidasa (documento JP-A-5-124980) o carbón activado (documento JP-A-2010-208969) como ingredientes activos como
40 composiciones capaces de prolongar la esperanza de vida de individuos normales. El carbón activado no es un compuesto absorbible por un organismo. Los efectos prolongadores de la esperanza de vida de quitosano y peroxidasa no son destacados (documento JP-A-2010-208969).

El documento EP 2.111.865 A1 está dirigido al uso de la función de azúcares raros, p.ej. una composición que comprende psicosa y tagatosa, en el tratamiento de trastornos asociados a la actividad glucocinasa.
45

El documento WO 2008/056452 A1 describe un agente que contiene D-alosa como ingrediente activo para retardar el inicio o la progresión de la discapacidad de movilidad respecto a esclerosis lateral amiotrófica.

50 Sumario de la invención

Por consiguiente, existe la necesidad de un agente que prolonga la esperanza de vida que pueda prolongar segura y eficazmente la esperanza de vida incluso cuando se usa continuamente en una forma similar a alimento. En la presente invención, se realiza la prolongación de la esperanza de vida procurando azúcares raros, tales como D-psicosa y D-alosa, usados como edulcorantes, a animales.
55

Es bien conocido que las dietas por restricción de la toma de calorías prolongan la esperanza de vida de animales tales como nematodos, moscas, ratones y monos. Es también conocido que las dietas por restricción de la toma de calorías retardan el inicio de enfermedades relacionadas con la edad, incluyendo por ejemplo diabetes sacarina, cáncer y enfermedad de Alzheimer, y prolongan la esperanza de vida en seres humanos. En realidad, sin embargo, las dietas por restricción de la toma de calorías son difíciles de mantener durante periodos extensos de tiempo, y existe la necesidad de algún medio para imitar las dietas por restricción de la toma de calorías y obtener los mismos efectos. La presente invención se ha elaborado para proporcionar una técnica útil que resuelva el problema anterior basándose en el mismo mecanismo de prolongación de la esperanza de vida encontrado en la técnica relacionada.
60

65

Los presentes inventores han completado la presente invención basándose en el descubrimiento de que una composición que contiene un azúcar raro utilizable como edulcorante contribuye a la prolongación de la esperanza de vida como ingrediente activo.

5 Específicamente, el quid de la presente invención incluye los siguientes agentes que prolongan la esperanza de vida (1) a (6) para uso como se define en la reivindicación 1.

(1) Un agente que comprende un azúcar raro utilizable como edulcorante como ingrediente activo para uso en la prolongación de la esperanza de vida mediante la potenciación de la producción o actividad de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa.

(2) El agente según (1), en el que el azúcar raro es D-psicosa y/o D-alosa.

(3) El agente según (1), en el que el azúcar raro es una composición de azúcar que contiene D-psicosa y/o D-alosa.

(4) El agente según (3), en el que el azúcar raro es una composición de azúcar que contiene de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y de 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar.

(5) El agente según (4), en el que el azúcar raro es un azúcar mixto producido mediante la conversión de la materia prima azúcares D-glucosa y/o D-fructosa para incluir de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y de 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar total.

(6) El agente según (4) a (5), en el que el azúcar raro es un azúcar isomerizado que contiene azúcar raro utilizable como edulcorante.

(7) El agente que prolonga la esperanza de vida según uno cualquiera de (1) a (6), en el que la esperanza de vida se prolonga basándose en el mismo mecanismo de prolongación de la esperanza de vida que funciona en un estado de restricción de la toma de calorías.

25 La presente invención puede proporcionar un agente que prolonga la esperanza de vida que contiene un azúcar raro utilizable como edulcorante, preferiblemente D-psicosa y/o D-alosa, como ingrediente activo, y que puede prolongar segura y eficazmente la esperanza de vida incluso cuando se usa continuamente en una forma similar a alimento.

30 Más específicamente, puede proporcionarse un agente que prolonga la esperanza de vida que tiene una composición de azúcar utilizable como edulcorante. La composición de azúcar es un azúcar mixto producido mediante la conversión de la materia prima azúcares D-glucosa y/o D-fructosa en una composición que incluye de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y de 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar total. La D-psicosa y/o la D-alosa están contenidas como ingredientes activos.

35 El agente que prolonga la esperanza de vida prolonga la esperanza de vida al potenciar la producción o actividad de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa.

Además, el agente que prolonga la esperanza de vida puede prolongar la esperanza de vida basándose en el mismo mecanismo que funciona en las dietas de restricción de la toma de calorías.

40 Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo N2 tratado con una composición que contiene un 0,25 % de D-psicosa.

45 La FIG. 2 es una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo N2 tratado con una composición que contiene un 0,5 % de D-alosa.

La FIG. 3 es una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo N2 tratado con una composición que contiene un 0,5 % (p/v) de D-psicosa.

50 La FIG. 4 es una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo mev-1 tratado con una composición que contiene un 0,25 % (p/v) de D-psicosa.

La FIG. 5 es una gráfica que representa el efecto de la D-psicosa sobre la expresión del gen de SOD en los nematodos N2 y mev-1.

La FIG. 6 es una gráfica que representa el efecto de la D-psicosa sobre la actividad de SOD en los nematodos N2 y mev-1.

55 La FIG. 7 es una gráfica que representa el efecto de la D-psicosa sobre la expresión del gen de catalasa en los nematodos N2 y mev-1.

La FIG. 8 es una gráfica que representa el efecto de la D-psicosa sobre la actividad de catalasa en el nematodo N2.

La FIG. 9 es un diagrama que representa un mecanismo prolongador de la esperanza de vida inducido por D-psicosa.

60 Descripción de la realización preferida

La presente invención se refiere a un agente que prolonga la esperanza de vida en que está contenido como ingrediente activo un azúcar raro utilizable como edulcorante. El azúcar raro puede ser, por ejemplo, D-psicosa y/o D-alosa.

El agente que prolonga la esperanza de vida de una realización de la presente invención prolonga la esperanza de vida de los animales al potenciar la producción, por ejemplo, de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa. Las SOD son enzimas redox que dismutan un anión superóxido ($\cdot\text{O}_2^-$) en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Las SOD tienen iones metálicos divalentes o trivalentes tales como iones de cobre (II) y cinc (II) (Cu, ZnSOD), e iones de manganeso (III) (MnSOD) y hierro (III) (FeSOD) en el centro activo, y se localizan en grandes cantidades en el citoplasma (Cu, ZnSOD) y mitocondrias (MnSOD). Los papeles de las SOD incluyen reducir el estrés oxidativo. Las SOD existen en tres formas, SOD1, SOD2 y SOD3, en seres humanos (y en todos los mamíferos y en la mayoría de los vertebrados). SOD1 reside en el citoplasma, SOD2 en las mitocondrias y SOD3 en el espacio extracelular. Los iones metálicos en el centro activo son cobre y cinc en SOD1 y SOD3, mientras que SOD2 tiene manganeso en el centro activo. Existen 5 formas de SOD en nematodos. SOD-1 y 5 están presentes en el citoplasma, SOD-2 y 3 en las mitocondrias y SOD-4 en el espacio extracelular.

Las catalasas son enzimas redox que dismutan peróxido de hidrógeno a oxígeno y agua y tienen iones de hierro (III) en el centro activo. Las catalasas están distribuidas en un amplio intervalo de organismos aeróbicos, incluyendo microorganismos, animales y plantas. En animales, la catalasa existe en grandes cantidades en un orgánulo celular denominado peroxisoma en el hígado y las células renales y en eritrocitos. En nematodos, la catalasa existe en dos formas, CTL-1 y CTL-2, que residen en el citoplasma y el peroxisoma, respectivamente.

Considerando que las SOD y las catalasas se encuentran comúnmente en animales, se cree que la presente invención es ventajosa como agente que prolonga la esperanza de vida en un amplio intervalo de animales.

Los ensayos realizados en la presente invención para la medida de la esperanza de vida usando *C. elegans* N2 de tipo silvestre y mev-1 mutante sensible a oxígeno, revelaron que un 0,5 % (p/v) de D-psicosa prolongaba la esperanza de vida un 17 % en N2. En mev-1, el nivel de expresión del gen de Mn-SOD (sod-3), localizado en mitocondrias, tenía un aumento de 1,7 veces medido mediante PCR-TI cuantitativa instantánea. La actividad enzimática de SOD tenía un aumento de 1,5 veces y 1,3 veces en N2 y mev-1, respectivamente. Además, N2 con un 0,5 % (p/v) de D-psicosa tenía un aumento de 1,5 veces en los niveles de expresión génica de catalasa localizada en el citoplasma y catalasas de peroxisoma (ctl-1, ctl-2).

Como se demostró anteriormente, la D-psicosa exhibe el efecto prolongador de la esperanza de vida al potenciar la resistencia al estrés oxidativo. Existe un informe de que la prolongación de la esperanza de vida en nematodos en estado de restricción de toma de calorías está inducido por proteínas antioxidantes (tales como SOD y catalasas) reguladas por la ruta de señalización de insulina/IGF (Braeckman, B.P. y Vanfleteren J.R., *Exp. Gerontol.* 42, 90-98 (2007)). Los comportamientos de SOD y catalasa en respuesta al azúcar raro comparten el mismo proceso que las dietas con restricción de la toma de calorías, y los resultados son los mismos. Se cree que la prolongación de la esperanza de vida por la ingestión de D-psicosa tiene el mecanismo representado en la FIG. 9.

Muchos compuestos actúan de forma similar a los agentes de restricción de la toma de calorías. Por ejemplo, la 2-desoxi-D-glucosa inhibe el sistema de glicólisis. El resveratrol, un polifenol del vino, activa la sirtuina. El inmunosupresor rapamicina suprime TOR. El agente antidiabético metformina activa AMPK. Estos compuestos no se han puesto en aplicación práctica por razones que incluyen alta toxicidad y efectos insuficientes.

Por otro lado, los azúcares raros usados en la realización de la presente invención están ya en uso como edulcorantes comestibles, y por tanto no tienen efectos adversos sobre el cuerpo humano. Los azúcares raros, con sus propiedades deseables de exhibir altos efectos, pueden usarse por lo tanto fácilmente en aplicaciones prácticas.

Se describe con detalle el agente que prolonga la esperanza de vida que usa los azúcares raros según una realización de la presente invención.

Azúcares raros

Entre los diversos monosacáridos como bloques de construcción de azúcar, los monosacáridos encontrados solo en cantidades residuales en la naturaleza se definen como "azúcares raros", mientras que los "monosacáridos naturales", como los representados por D-glucosa (glucosa) hacen referencia a monosacáridos que se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza. Son conocidos en la naturaleza un total de 59 monosacáridos, de los cuales 7 se clasifican como "monosacáridos naturales", y 52 como "azúcares raros". Los azúcares raros existen solo en cantidades limitadas. Por ejemplo, la D-alosa está presente en cantidades mucho menores que la D-glucosa (glucosa) en la naturaleza.

Actualmente, la D-psicosa y la D-alosa son los únicos azúcares raros producidos masivamente. La D-psicosa es una hexosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) presente como la forma D de la psicosa clasificada como una cetohexosa en las categorías de azúcares raros. La D-psicosa puede obtenerse mediante diferentes procesos, incluyendo extracción de la naturaleza, síntesis químicas y síntesis biológicas. La D-alosa (D-alohexosa) es una hexosa ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) con un punto de fusión de 178 °C presente como la forma D de alosa clasificada como aldosa (aldohexosa). Recientemente, se

describe en el documento JP-A-2002-17392 un procedimiento de producción de D-alosa a partir de D-psicosa, que es hacer actuar en una solución que contiene D-psicosa D-xilosa isomerasa, produciendo D-alosa. Como se describe anteriormente, la D-psicosa y la D-alosa son monosacáridos presentes en la naturaleza solo en cantidades pequeñas. Y no hay informes que apunten a la toxicidad de estos azúcares raros en seres humanos, lo que sugiere que la toxicidad contra animales es baja.

La D-psicosa tiene un buen sabor y dulce refrescante similar al dulzor de la fructosa, ausentes la molestia asociada al amargor y la aspereza de la sacarina. El grado de dulzor es de aproximadamente un 70 % de la sacarosa. Además, la naturaleza no calórica de D-psicosa y D-alosa ha hecho a estos azúcares raros preferibles como edulcorantes sanos.

Composición de azúcar 1 utilizable como edulcorante que contiene un agente que prolonga la esperanza de vida azúcar raro como ingrediente activo

En una forma específica, es una composición de azúcar utilizable como edulcorante que contiene un agente que prolonga la esperanza de vida azúcar raro como ingrediente activo un edulcorante que contiene de aproximadamente 20 a 80 partes en peso de fructosa y de aproximadamente 80 a 20 partes en peso de glucosa y psicosa combinada, y contiene también psicosa en una proporción de 5 partes en peso o más, preferiblemente 10 partes en peso o más con respecto a las 100 partes en peso totales de glucosa y psicosa en la mezcla. El edulcorante previene enfermedades relacionadas con el estilo de vida tales como obesidad, y tiene un grado de dulzor y sabor similares a los de un azúcar de mesa (documento WO2008/142860).

El edulcorante es una mezcla de componentes de fructosa, glucosa y psicosa, y se obtiene mezclando estos componentes. La fructosa y la glucosa son monosacáridos comunes de origen natural, y pueden aislarse de la naturaleza. La fructosa puede separarse también, por ejemplo, de un azúcar líquido de fructosa/glucosa obtenido mediante tratamiento de glucosa con glucosa isomerasa. La glucosa se produce a partir de almidón por hidrólisis. La psicosa, un tipo de azúcar raro presente solo en cantidades limitadas en la naturaleza, puede obtenerse tratando fructosa con cetohexosa 3-epimerasa. Aparte de producirse como una mezcla de cada componente constituyente, el edulcorante puede producirse también añadiendo D-psicosa a un azúcar líquido de fructosa/glucosa producido a partir de la materia prima glucosa por la acción de glucosa isomerasa, o convirtiendo una parte de la fructosa en D-psicosa en el azúcar líquido de fructosa/glucosa por la acción de D-cetosa 3-epimerasa. Además, el edulcorante novedoso que contiene glucosa, fructosa y D-psicosa en el intervalo específico anterior puede producirse en una etapa a partir de una solución de glucosa por la acción simultánea de glucosa isomerasa y D-cetosa 3-epimerasa. En términos de costes, es más ventajoso usar un procedimiento en que se efectúan directamente en serie el tratamiento con glucosa isomerasa (isomerización) y el tratamiento con D-cetosa 3-epimerasa de la glucosa, o un procedimiento en que se obtiene la composición de azúcar diana de una vez a partir de glucosa en un sistema enzimático mixto de glucosa isomerasa y D-cetosa 3-epimerasa.

Se mezcla la D-psicosa en una proporción tal que la relación de fructosa a total de glucosa y psicosa oscile preferiblemente de 80 a 20 partes en peso: 20 a 80 partes en peso. Con un contenido de fructosa de 80 partes o más, el dulzor aumenta pero se reduce el "cuerpo". Con un contenido de fructosa de 20 partes o menos, el dulzor tiende a no ser satisfactorio. El edulcorante exhibe un grado de dulzor y un sabor comparables a los de un azúcar de mesa cuando la psicosa está contenida a una proporción de 5 partes en peso o más con respecto a las 100 partes en peso totales de glucosa y psicosa. El edulcorante exhibe el efecto preventivo de la obesidad con un contenido de psicosa de 10 partes en peso o más.

Son posibles diversos procedimientos de producción con el azúcar líquido de fructosa/glucosa, glucosa o almidón usados como materia prima de partida.

Por ejemplo, (1) se prepara un azúcar líquido de fructosa/glucosa a partir de almidón o glucosa, y se prepara la psicosa mediante la acción de cetosa 3-epimerasa. (2) Se obtiene un azúcar líquido de glucosa descompuesto descomponiendo almidón por la acción de glucosa isomerasa y cetosa 3-epimerasa en un estado enzimático mixto.

(I) Procedimiento que usa una planta continua (azúcar líquido de fructosa/glucosa descompuesto → cetosa 3-epimerasa)

(1) Producción de solución de azúcar líquido de fructosa/glucosa descompuesto

Se produce un azúcar líquido de fructosa/glucosa descompuesto usando un procedimiento ordinario que usa, por ejemplo, un almidón de maíz, patata o patata dulce como materia prima con enzimas tales como α -amilasa, glucoamilasa y glucosa isomerasa en un sistema inmovilizado o por lotes. El almidón de materia prima y el tipo de enzima usada no están limitados a estos. Según sea necesario, puede efectuarse la producción de solución de glucosa por lisis ácida o isomerización usando una base.

(2) Producción de D-psicosa a partir de solución de azúcar líquido de fructosa/glucosa

Se somete la solución de azúcar isomerizado descompuesto producida continuamente a la acción de epimerasa, produciendo una solución mixta de glucosa, fructosa y psicosa.

(II) Procedimiento que usa una enzima mixta (azúcar líquido de glucosa descompuesto → glucosa isomerasa + cetosa 3-epimerasa)

Se cargan enzimas inmovilizadas, incluyendo isomerasa y epimerasa, en una columna apropiada. Se hace circular continuamente entonces un azúcar líquido de glucosa descompuesto y se retira el líquido de reacción. La sustancia de partida glucosa puede cambiarse aquí por almidón, y puede usarse un sistema enzimático mixto que incluye adicionalmente α -amilasa y glucoamilasa.

Para la producción de la composición de azúcar de la realización de la presente invención, puede usarse una enzima purificada para la glucosa isomerasa que actúa sobre la glucosa para conversión parcial en fructosa, o puede usarse un microorganismo productor de la enzima. La cetohexosa 3-epimerasa es una enzima que isomeriza el OH en C-3 de una cetohexosa tal como fructosa. Los ejemplos conocidos de cetohexosa 3-epimerasa incluyen D-tagatosa 3-epimerasa y D-psicosa 3-epimerasa (patente japonesa número 3333969: "D-ketohexose-3-epimerase obtainable from Pseudomonas bacteria"; y "The 3rd Symposium of International Society of Rare Sugars"). La cetohexosa 3-epimerasa puede ser una enzima purificada, una enzima inmovilizada inmovilizando un microorganismo productor de la enzima o un microorganismo inmovilizado.

Un azúcar isomerizado común tal como HFCS que contiene los azúcares constituyentes fructosa (42 partes en peso) y glucosa (58 partes en peso) produce glucosa (58 partes en peso), fructosa (34 partes en peso) y psicosa (8 partes en peso) por la acción de tagatosa 3-epimerasa usada como cetohexosa 3-epimerasa. Sin embargo, bastante inesperadamente, la glucosa bajo la acción de una enzima mixta que contenía glucosa isomerasa y tagatosa 3-epimerasa procuraba una mezcla de glucosa (41 partes en peso), fructosa (48 partes en peso) y psicosa (11 partes en peso). Ambas mezclas tenían un grado de dulzor y un sabor más parecido al azúcar de mesa que al azúcar líquido de fructosa/glucosa de la técnica relacionada. El grado de dulzor y el sabor dulce pueden ajustarse añadiendo fructosa y glucosa a estas mezclas.

Composición de azúcar 2 utilizable como edulcorante que contiene un agente que prolonga la esperanza de vida azúcar raro como ingrediente activo

Un azúcar isomerizado que contiene un azúcar raro es un ejemplo de composición de azúcar que contiene D-psicosa y D-alosa.

Entre las mezclas de azúcares actualmente en uso real, los azúcares líquidos o "azúcares isomerizados" o "jarabe de maíz rico en fructosa (HFCS)", como se denominan a menudo, que contienen D-glucosa y D-fructosa, tienen el mayor uso para la producción de alimentos y bebidas. Los azúcares isomerizados incluyen, por ejemplo, azúcar líquido de glucosa/fructosa, azúcar líquido de fructosa/glucosa y azúcar líquido rico en fructosa. Estos azúcares se denominan colectivamente azúcares isomerizados porque, actualmente, las aplicaciones industriales son solo posibles mediante la reacción de isomerización que convierte la D-glucosa (glucosa) en D-fructosa (fructosa) con glucosa isomerasa. Cualquier azúcar mixto producido con fines de obtener una composición de azúcar que contiene una hexosa específica, aprovechando la actividad fisiológica de la hexosa específica, representa una composición de azúcar novedosa.

Por ejemplo, se considera un azúcar isomerizado que contiene D-psicosa y D-alosa, producido por conversión de un "azúcar isomerizado" contemplado ampliamente, como un azúcar mixto cuya composición principal incluye D-glucosa y D-fructosa, y la D-psicosa y D-alosa diana como hexosas que tienen excelentes efectos fisiológicos. En este caso, el azúcar mixto que contiene las hexosas diana en cantidades predeterminadas, y que tiene una composición de azúcar diferente de la composición del azúcar materia prima, representa una composición de azúcar novedosa.

Puede producirse un azúcar mixto de una composición deseada tratando materiales en condiciones óptimas para satisfacer el contenido de hexosa diana fijado por adelantado con respecto al contenido de azúcar según factores tales como el tipo y extensión de las funciones pretendidas, el uso y la dosis. Específicamente, se trata un azúcar isomerizado como un azúcar mixto cuya composición principal incluye la materia prima azúcares D-glucosa y D-fructosa, o una materia prima solución de azúcar de D-glucosa y/o D-fructosa, en un sistema que incluye al menos uno seleccionado del grupo consistente en una resina de intercambio iónico básica, una base y una sal de calcio. La reacción de isomerización resultante (reacción de equilibrio) convierte la materia prima azúcares D-glucosa y D-fructosa en la D-psicosa y la D-alosa diana, produciendo una composición de azúcar que contiene D-psicosa y D-alosa de una composición de azúcar diferente de la composición de la materia prima azúcar isomerizado, y que contiene de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y de 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar (véase el documento WO2010/113785). Por ejemplo, la composición de hexosa contiene tanto D-psicosa como D-alosa, preferiblemente de 1,0 a 15,0 % de D-psicosa y de 0,4 a 8,0 % de D-alosa, lo más preferiblemente de aproximadamente 2,5 a 8,0 % de D-psicosa y de 1,5 a 5,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar total.

La composición de hexosa que contiene tanto D-psicosa como D-alosa tiene efectos notables, exhibidos inesperadamente por la sinergia de las dos y no posibles con la D-psicosa o D-alosa solas. Por ejemplo, la composición exhibe excelentes efectos fisiológicos. Específicamente, dichos efectos sinérgicos se observan en el índice de reducción del peso corporal, el índice de reducción de la grasa corporal y el índice de reducción de la dieta. Mediante la ingestión de la composición de azúcar que contiene D-psicosa y D-alosa, pueden observarse disminuciones del nivel de glucosa y del nivel de insulina. Una disminución del nivel de insulina por la composición de azúcar es un efecto no encontrado en los ensayos anteriores que usan D-psicosa o D-alosa solas.

Para que la composición de azúcar exhiba los excelentes efectos anteriores, las proporciones de D-psicosa y D-alosa con respecto al contenido de azúcar total son preferiblemente de 0,5 a 15,0 %, más preferiblemente de 1,0 a 15,0 %, lo más preferiblemente de 2,5 a 8 % para D-psicosa, y preferiblemente de 0,2 a 10,0 %, más preferiblemente de 0,4 a 8,0 %, lo más preferiblemente de 1,5 a 5,0 % para D-alosa.

La cantidad total de D-psicosa y D-alosa oscila preferiblemente de 0,7 a 25,0 %, más preferiblemente de 1,4 a 23,0 %, lo más preferiblemente además de 4,0 a 13,0 %.

La composición de azúcar puede usarse con edulcorantes tales como sacarosa, alcohol de azúcar, aspartamo y estevia, como se desee. Además, para integridad u otras propiedades deseadas, la composición de azúcar puede usarse mezclando con fibras dietéticas hidrosolubles de bajo dulzor (tales como povidex, inulina y dextrina resistente) u otros componentes fisiológicamente activos según el uso o preferencias pretendidos.

Uso y aplicación del agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención

El agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede usarse para fármacos o parafármacos, composiciones orales, cosméticos, alimentos, alimentos con propiedades saludables, alimentos para pacientes, materiales alimentarios, materiales alimentarios con propiedades saludables, materiales alimentarios para pacientes, aditivos alimentarios, aditivos alimentarios con propiedades saludables, aditivos alimentarios para pacientes, bebidas, bebidas con propiedades saludables, bebidas para pacientes, agua potable, agua potable con propiedades saludables, agua potable para pacientes, agentes medicinales, materias primas de preparación, piensos y piensos para animales domésticos y/o silvestres bajo tratamiento.

Para uso como alimento, el agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede usarse como tal o en forma de una solución diluida en agua o similar, una suspensión oleosa o una emulsión. Además, el agente que prolonga la esperanza de vida puede prepararse añadiendo un portador usado comúnmente en la industria alimentaria. Las bebidas pueden ser bebidas no alcohólicas o bebidas alcohólicas. Los ejemplos de bebidas no alcohólicas incluyen bebidas carbonatadas, bebidas no carbonatadas (tales como zumo y néctar de fruta), refrescos, bebidas deportivas, té, café y chocolate caliente. Las bebidas alcohólicas pueden estar en forma, por ejemplo, de cerveza, cerveza baja en malta, cerveza de tercera categoría, *sake*, *umeshu*, vino, champán, licor, *chuhai* o licor medicinal.

Para uso como material alimentario o aditivo alimentario, el agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede estar en forma, por ejemplo, de un comprimido, formulación de cápsula, agente sólido (tal como un polvo y un gránulo) disuelto en bebidas, semisólido tal como jalea, líquido (tal como agua potable) y solución de alta concentración diluida antes del uso. Pueden mezclarse apropiadamente componentes opcionales tales como vitaminas, carbohidratos, tintes y agentes aromatizantes añadidos comúnmente al alimento. El alimento puede procurarse en cualquier forma, incluyendo un líquido y un sólido. El agente que prolonga la esperanza de vida puede procurarse como una formulación de cápsula blanda al encapsularse en gelatina o similar. La cápsula usa un recubrimiento de gelatina preparado, por ejemplo, disolviendo la materia prima gelatina en agua y añadiendo un plastificante (tal como glicerina y D-sorbitol) a la solución de gelatina.

Los ejemplos de suplementos dietéticos y alimentos funcionales incluyen alimentos líquidos, alimentos nutritivos semidigeridos, alimentos dietéticos elementales, preparaciones bebibles, formulaciones de cápsula y suplementos nutritivos entéricos procesados para contener, por ejemplo, azúcares, grasa, oligoelementos, vitaminas y agentes aromatizantes. Para un equilibrio nutritivo y sabor mejorados, el alimento (por ejemplo bebidas tales como bebidas deportivas y bebidas nutritivas) puede mezclarse con aditivos nutritivos o composiciones tales como aminoácidos, vitaminas y minerales, o con especias, agentes aromatizantes o tintes.

El agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención es aplicable a piensos para animales domésticos, pollos domésticos y mascotas. Por ejemplo, el agente que prolonga la esperanza de vida puede mezclarse con alimento para perros seco, alimento para gatos seco, alimento para perros húmedo, alimento para gatos húmedo, alimento para perros semihúmedo y piensos para aves de corral, o con piensos para animales domésticos tales como vacas y cerdos. El pienso mismo puede prepararse usando un procedimiento ordinario.

El agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede usarse también para animales no humanos incluyendo, por ejemplo, mamíferos domésticos tales como vacas, caballos, cerdos y ovejas;

aves tales como pollos, codornices y avestruces; reptiles, aves y mamíferos pequeños usados como mascotas y peces de criadero.

El agente medicinal que explota el efecto prolongador de la esperanza de vida del agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede usarse solo, o puede administrarse por vía oral, transnasal, percutánea o intravenosa como una preparación en una forma de dosificación adecuada tal como un líquido, gránulo, microgránulo, polvo, comprimido, formulación de cápsula, bola, pomada, parche cutáneo adhesivo, agente atomizador, pulverizador e inyección después de mezclar con un aditivo ordinario adecuado tal como un excipiente, estabilizante, conservante, aglutinante y disgregante.

Pueden usarse sólidos orgánicos o inorgánicos, portadores semisólidos o líquidos, solubilizantes o diluyentes para uso médico adecuados para administración oral, administración nasal, administración percutánea o administración intravenosa para preparar la composición de la realización de la presente invención como agente medicinal. Son utilizables como portador para un agente medicinal que contiene la composición de la realización de la presente invención agua, gelatina, lactosa, almidón, estearato de magnesio, talco, aceite animal/vegetal, alcohol bencílico, goma, polialquilenglicol, resina de petróleo, aceite de coco, lanolina y todos los demás portadores que tienen uso medicinal. Además, pueden usarse apropiadamente también como agente medicinal auxiliar estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes y sales para cambiar la presión osmótica o mantener un pH adecuado para un agente de combinación.

El agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención puede usarse también para cosmética. El uso de una película soluble para la preparación de cosméticos y otros productos se ha vuelto común durante los últimos años. Por ejemplo, se han usado películas solubles comestibles como películas aromáticas que contienen ingredientes tales como un agente aromatizante con fines refrescantes o para prevenir el mal aliento. Otras aplicaciones basadas en ideas previas incluyen una mascarilla que usa una película cosmética que contiene un hidratante o similar y una emulsión producida disolviendo el agente que prolonga la esperanza de vida en agua.

También es posible usar una película soluble propuesta que tiene una excelente solubilidad y características de película y que se prefiere para uso como material de envasado para alimentos y fármacos, o como portador que contiene los ingredientes activos de alimentos y fármacos (documento JP-A-2007-91696).

El agente que prolonga la esperanza de vida de la realización de la presente invención tiene por tanto un amplio intervalo de aplicaciones, incluyendo alimentos y bebidas, aditivos alimentarios, fármacos, parafármacos, composiciones orales, cosméticos y piensos.

La presente invención se describe a continuación con más detalle basándose en ejemplos. Sin embargo, debería observarse que la presente invención no está limitada en modo alguno a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Experimento: Efecto prolongador de la esperanza de vida de D-psicosa y D-alosa en nematodos

(I) Procedimiento de ensayo

(1) Animal de ensayo

Se usó la cepa N2 de tipo silvestre del nematodo *Caenorhabditis elegans*.

(2) Medio

Se usó medio líquido S completo (Sulston, J.E. y Brenner, S. (1974) *Genetics* 77, 95-104) para el cultivo del nematodo. Se añadieron D-psicosa o D-alosa al medio al 0,25 % (14 mM) y 0,5 % (28 mM). Se añadió la cepa OP50 de *Escherichia coli* (E. coli) a 30 mg (peso húmedo/ml) para alimentar los gusanos. Para excluir los efectos de las células germinales sobre la esperanza de vida, se añadió el inhibidor de la división celular 2'-desoxi-5-fluorouridina (40 µM).

(3) Medidas del índice de supervivencia de nematodos y esperanza de vida media

Se usaron gusanos jóvenes, de 4 días de edad, para las medidas del índice de supervivencia y la esperanza de vida media. Se dispensó el medio líquido preparado en 10 placas Petri de plástico con un diámetro de 3,5 cm (2 ml cada una). Se transfirieron 10 nematodos a cada placa Petri (un total de 100 individuos) y se cultivaron a 20 °C. Se inocularon las muestras en un medio nuevo cada día hasta el día 3, y cada 2 a 3 días después de ello. Se hicieron observaciones en el momento de la inoculación y se registró el número de individuos supervivientes.

(II) Resultados de ensayo

(1) Índice de supervivencia de nematodos con el tiempo

5 Las FIG. 1 y 2 representan los cambios en el índice de supervivencia de nematodos con el tiempo con la adición de 0,25 % y 0,5 % de D-alosa. Las Fig. 1 y 2 muestran también los cambios en el índice de supervivencia de nematodos de un grupo de control.

(2) Efecto prolongador de la esperanza de vida

10 Los resultados de la comparación de la esperanza de vida media calculada a partir de los días y el índice de supervivencia de los nematodos fueron los siguientes.

15 1) La esperanza de vida media después del tratamiento con 0,25 % de D-psicosa era de 18,9 días (15,8 días para el control), lo que representa un 20 % de aumento.

2) La esperanza de vida media después del tratamiento con 0,5 % de D-alosa era de 15,8 días (12,5 días para el control), lo que representa un 26 % de aumento.

(III) Resultados

20 Los resultados anteriores confirmaron un máximo de un 26 % de aumento de la esperanza de vida media después del tratamiento con la composición que contenía el azúcar raro como ingrediente activo.

Ejemplo 2

25 Se cultivó la cepa N2 de tipo silvestre del nematodo *Caenorhabditis elegans* y se midió la esperanza de vida media de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto porque se usó D-psicosa al 0,5 % (p/v). La FIG. 3 muestra una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo N2 después de tratamiento con una composición que contiene D-psicosa. La esperanza de vida media con 0,5 % de D-psicosa era de 27 días, mayor que la esperanza de vida de 23 días del control exento de D-psicosa

Ejemplo 3

35 Se cultivó el mutante sensible al oxígeno mev-1 del nematodo *Caenorhabditis elegans* y se midió la esperanza de vida de la misma manera que en el ejemplo 1, excepto porque se usó D-psicosa al 0,25 %. La FIG. 4 muestra una gráfica que representa el índice de supervivencia del nematodo mev-1 después del tratamiento con una composición que contiene D-psicosa. La esperanza de vida media con 0,25 % de D-psicosa era de 16 días, mayor que la esperanza de vida de 12 días del control exento de D-psicosa.

Ejemplo 4

40 Se cultivaron el N2 de tipo silvestre y el mutante sensible a oxígeno mev-1 del nematodo *Caenorhabditis elegans* en medio líquido (10 ml) que contenía un 0,5 % (p/v) de D-psicosa. Se dispensó el medio a placas Petri de plástico con un diámetro de 10 cm, y se dispusieron aproximadamente 1.000 nematodos en cada placa Petri. Se cultivaron los nematodos de la misma manera que en el Ejemplo 1, excepto por estas diferencias, y se recogieron las muestras el día 6 desde el inicio del cultivo. La FIG. 5 representa los resultados de la comparación de los niveles de expresión de ARNm del gen de SOD. Para comparación, se midieron los niveles de ARNm del gen de Mn-SOD mitocondrial y Cu/ZnSOD de citosol. Puede observarse que ambas cepas de nematodo tienen una expresión aumentada del gen de SOD.

Ejemplo 5

50 Se hicieron crecer el N2 de tipo silvestre y el mutante sensible a oxígeno mev-1 del nematodo *Caenorhabditis elegans* de la misma manera que en el ejemplo 4. Se recogieron las muestras el día 7 desde el inicio del cultivo y se midió la actividad de SOD en el lisado. Se presentan los resultados en la FIG. 6. Como resulta evidente por la gráfica, ambas cepas de nematodo con D-psicosa tenían una actividad de SOD aumentada.

Ejemplo 6

60 Se cultivaron el N2 de tipo silvestre y el mutante sensible a oxígeno del nematodo *Caenorhabditis elegans* de la misma manera que en el ejemplo 4. Se recogieron las muestras el día 6 desde el inicio del cultivo y se compararon los niveles de expresión de ARNm del gen de catalasa. Se presentan los resultados en la FIG. 7. Para comparación, se midieron los niveles de ARN del gen de cti-1 de citosol y CTL-2 de peroxisoma. Puede observarse que ambas cepas de nematodo tienen una expresión del gen de SOD aumentada.

Ejemplo 7

Se hizo crecer el N2 de tipo silvestre del nematodo *Caenorhabditis elegans* de la misma manera que en el ejemplo 4. Se recogieron las muestras el día 7 desde el inicio del cultivo, y se midió la actividad de catalasa en el lisado. Se presentan los resultados en la FIG. 8. Como resulta evidente por la gráfica, ambas cepas de nematodo con D-psicosa tenían una actividad de catalasa aumentada.

Ejemplo 8

Se procuró D-psicosa a ratas y se evaluaron las condiciones de crecimiento.

Procedimientos experimentales

Se dividieron 24 ratas Wistar macho de 3 semanas de edad en 4 grupos (6 ratas en cada grupo) y se hicieron crecer durante 10 meses con acceso libre a agua y los siguientes piensos

- (1) CE-2 (CLEA Japan) con 2,5 % de fructosa (CE-2-F)
- (2) CE-2 con 2,5 % de D-psicosa (CE-2-P)
- (3) Pienso que contiene un azúcar isomerizado (HFCS) (azúcar de azúcar isomerizado 28,5 % + almidón 28,5 % (p/p): HFCS)
- (4) Pienso que contiene un jarabe que contiene un azúcar raro (RareSweet Co., Ltd.; azúcar de jarabe que contiene un azúcar raro 28,5 % + almidón 28,5 %: RSS)

Después del crecimiento, se midió el peso corporal de cada rata y se realizó una autopsia para la medida del peso del cerebro y otros órganos. Se dieron los valores medidos como valores medios $\pm$ desviación estándar y se aplicó una prueba de t.

Resultados

Los pesos corporales de rata (g) después del crecimiento eran de 452 ± 11 para el grupo de CE-2-F, de 436 ± 12 para el grupo de CE-2-P, de 417 ± 12 para el grupo de HFSC y de 391 ± 17 para el grupo de RSS. Se confirmó una reducción significativa del peso corporal entre el grupo de CE-2-F y el grupo de CE-2-P, y entre el grupo de HFSC y el grupo de RSS. Las comparaciones de los pesos de órganos entre el grupo de CE-2-F y el grupo de CE-2-P y entre el grupo de HFSC y el grupo de RSS no encontraron ninguna diferencia significativa en cerebro y músculo.

Como se demostró anteriormente por el experimento de crecimiento a largo plazo de 10 meses, el jarabe que contiene azúcar raro que contienen azúcares raros tales como D-psicosa y D-alosa solos o en combinación suprime la obesidad, sin estar acompañado de las reducciones de peso del cerebro o la masa muscular observadas a menudo en la edad anciana. El resultado sugiere por tanto la posibilidad de que el jarabe que contiene los azúcares raros suprima la atrofia cerebral relacionada con la edad y la reducción de la masa muscular relacionada con el envejecimiento.

La presente invención encontró características novedosas en monosacáridos (azúcares raros) encontrados en cantidades residuales en la naturaleza, y desarrolló un uso novedoso de los azúcares raros.

La presente invención puede proporcionar un agente que prolonga la esperanza de vida que contiene azúcares raros, preferiblemente D-psicosa y/o D-alosa, utilizables como edulcorantes, y que es seguro y puede ingerirse fácilmente en una forma similar a alimento.

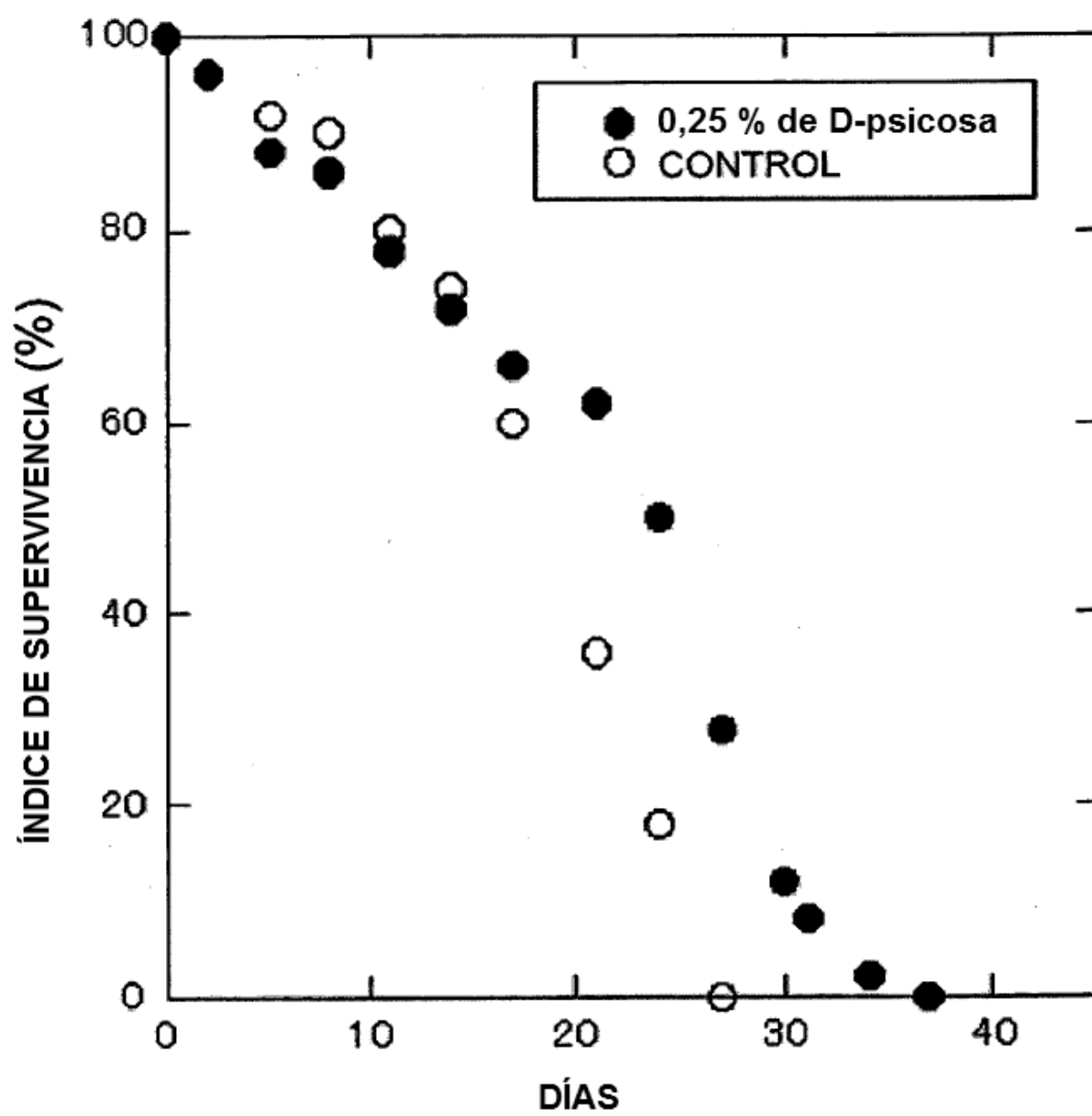
La presente invención tiene un alto potencial en aplicaciones industriales debido a que la invención proporciona un uso novedoso de azúcares raros producidos por el procedimiento recientemente desarrollado de producción de azúcares raros a partir de monosacáridos abundantes en la naturaleza.

Un agente que prolonga la esperanza de vida que es seguro para animales y puede ingerirse fácilmente en una forma similar a alimentos. Se da a conocer también un procedimiento prolongador de la esperanza de vida. En el agente que prolonga la esperanza de vida, está contenido como ingrediente activo un azúcar raro utilizable como edulcorante.

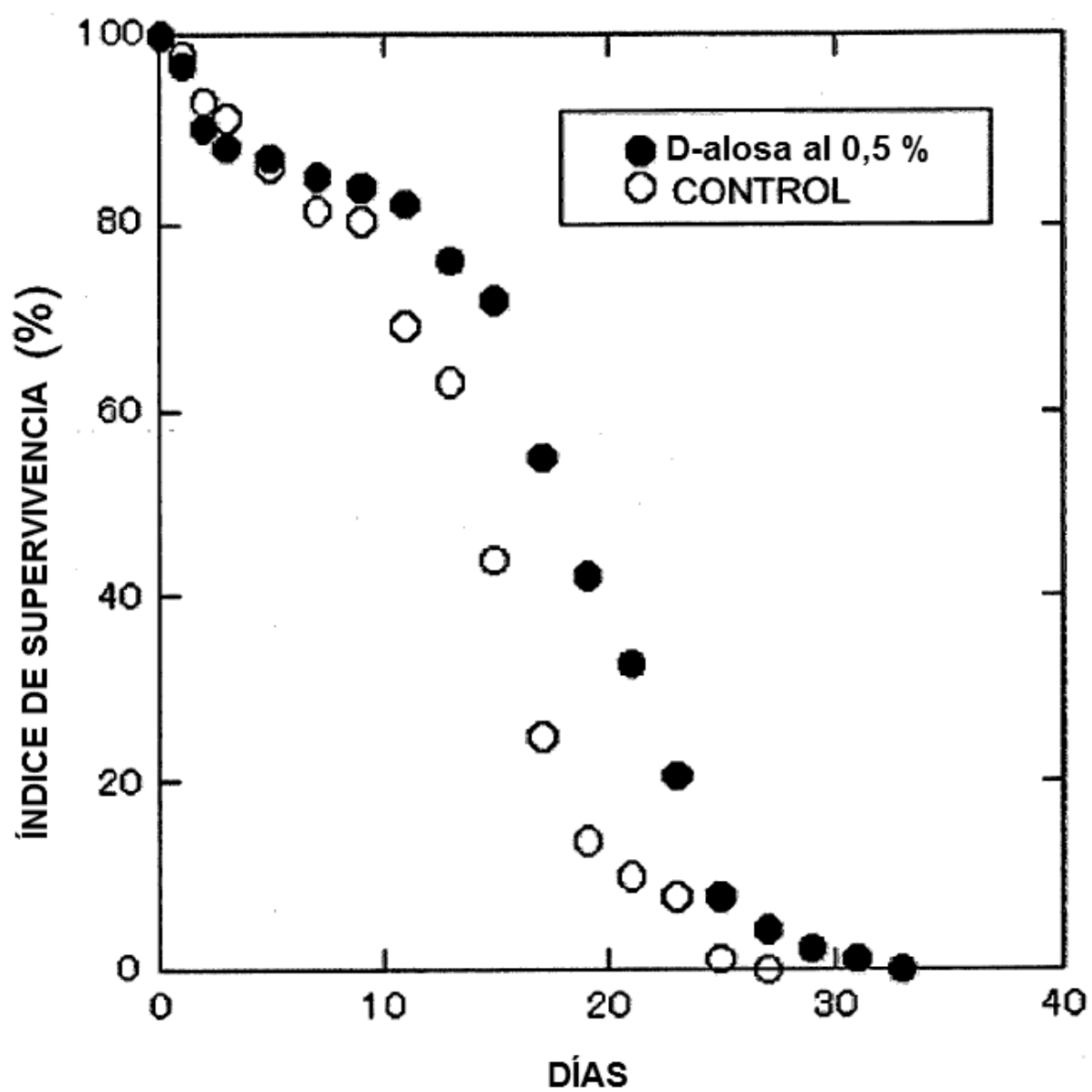
REIVINDICACIONES

1. Un agente que comprende como ingrediente activo un azúcar raro utilizable como edulcorante para uso en la prolongación de la esperanza de vida al potenciar la producción o actividad de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa.
5
2. El agente para uso según la reivindicación 1, en el que el azúcar raro es D-psicosa y/o D-alosa.
3. El agente para uso según la reivindicación 1, en el que el azúcar raro es una composición de azúcar que contiene D-psicosa y/o D-alosa.
10
4. El agente para uso según la reivindicación 3, en el que el azúcar raro es una composición de azúcar que contiene de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y de 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar total.
5. El agente para uso según la reivindicación 4, en el que el azúcar raro es un azúcar mixto producido mediante la conversión de la materia prima azúcares D-glucosa y/o D-fructosa para incluir de 0,5 a 17,0 % de D-psicosa y 0,2 a 10,0 % de D-alosa con respecto al contenido de azúcar total.
15
6. El agente para uso según la reivindicación 4 o 5, en el que el azúcar raro es un azúcar isomerizado que contiene azúcar raro utilizable como edulcorante.
20

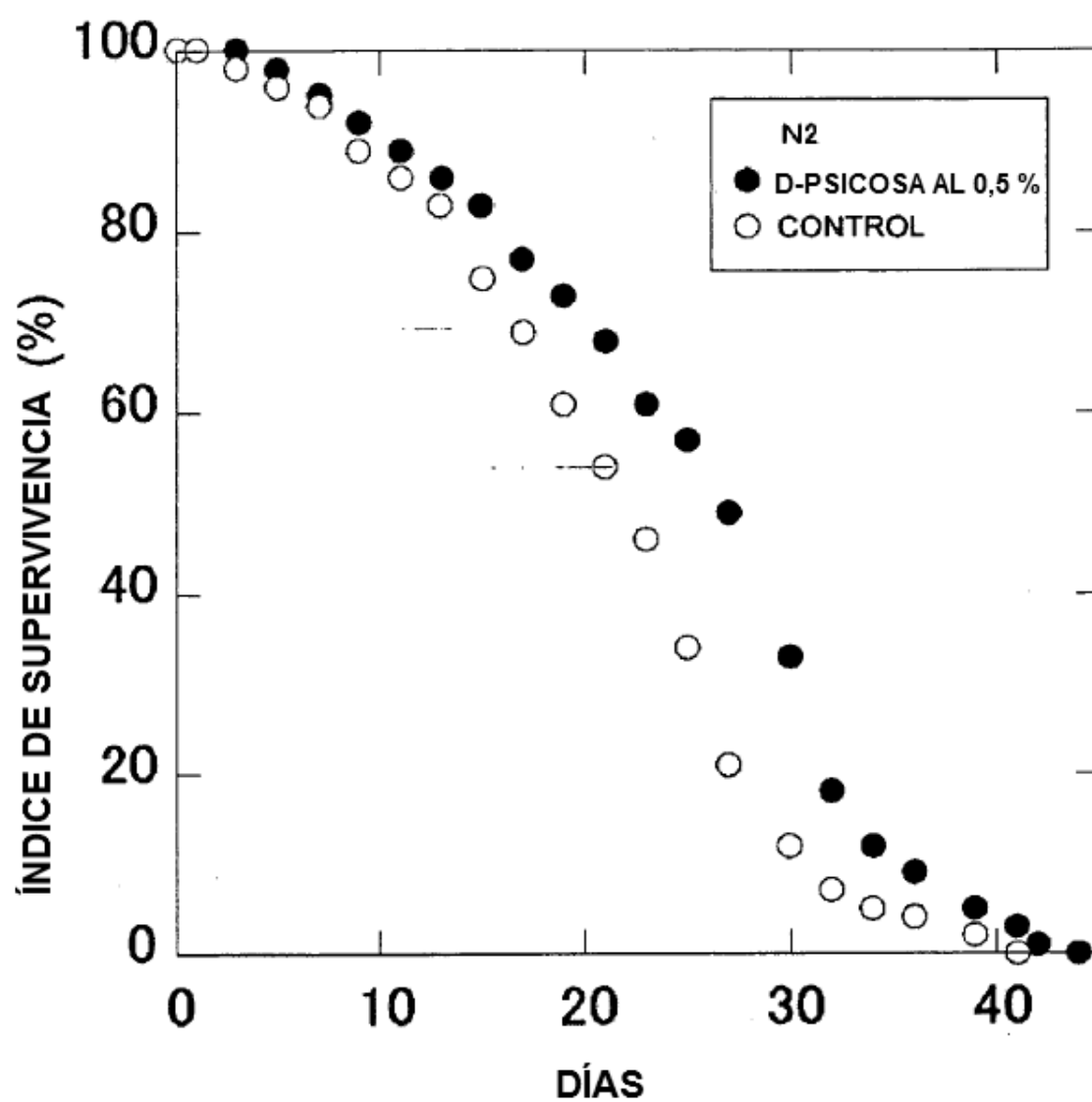
[Fig.1]



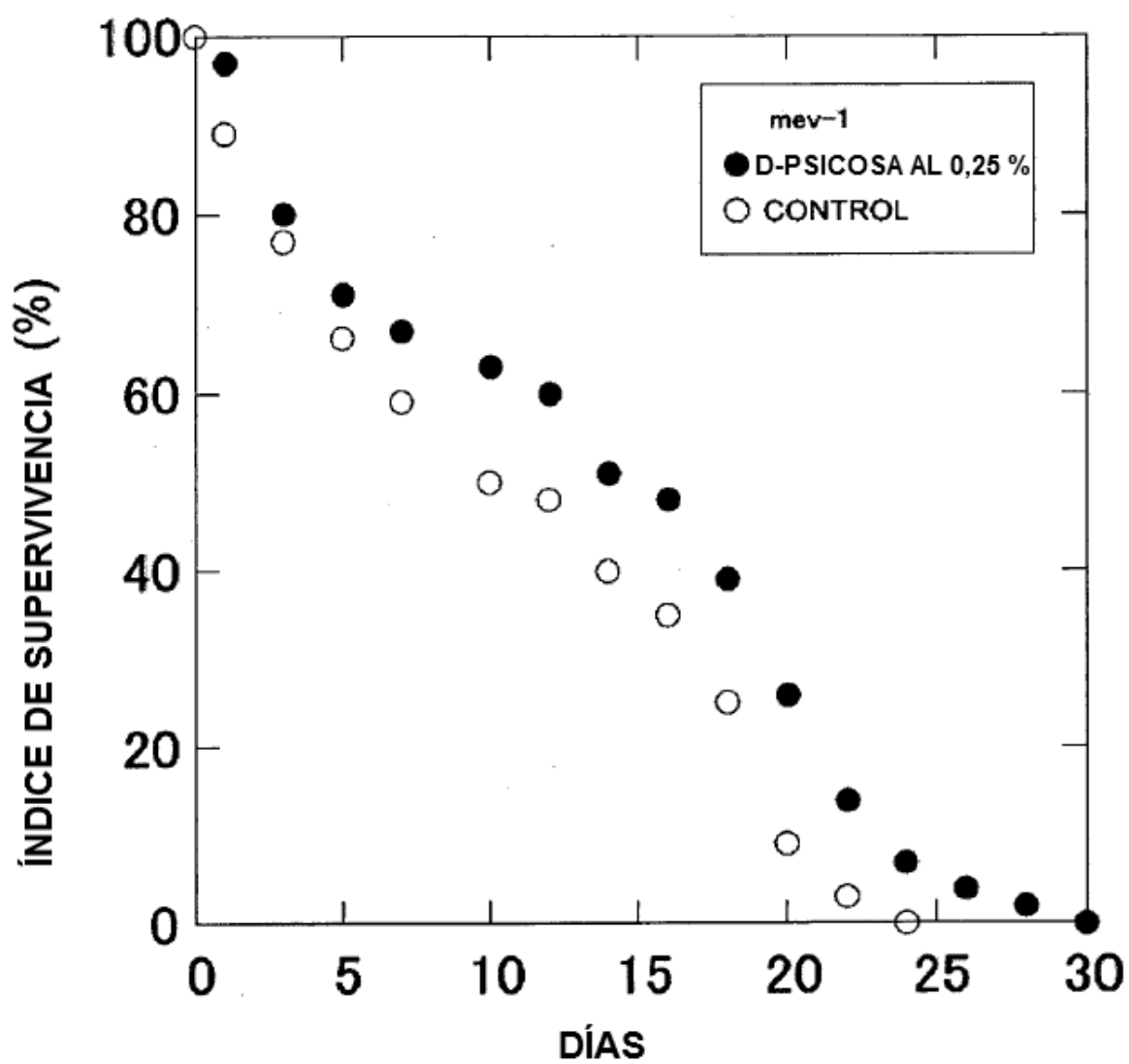
[Fig.2]



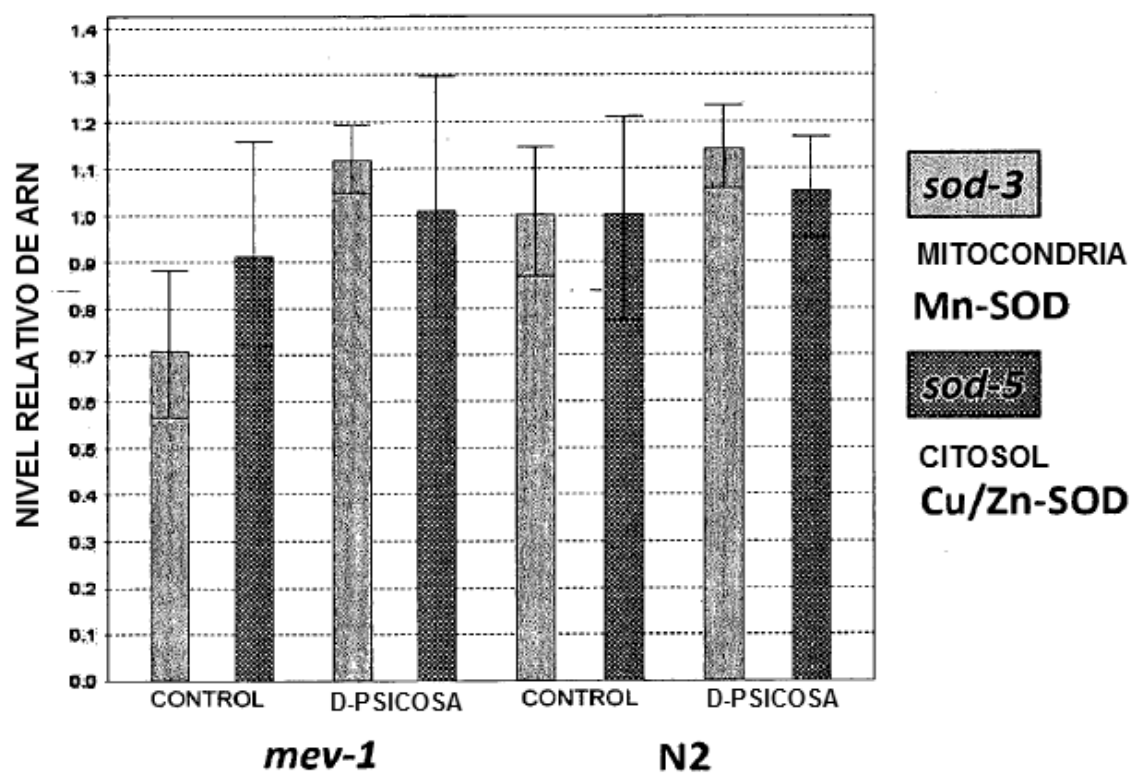
[Fig.3]



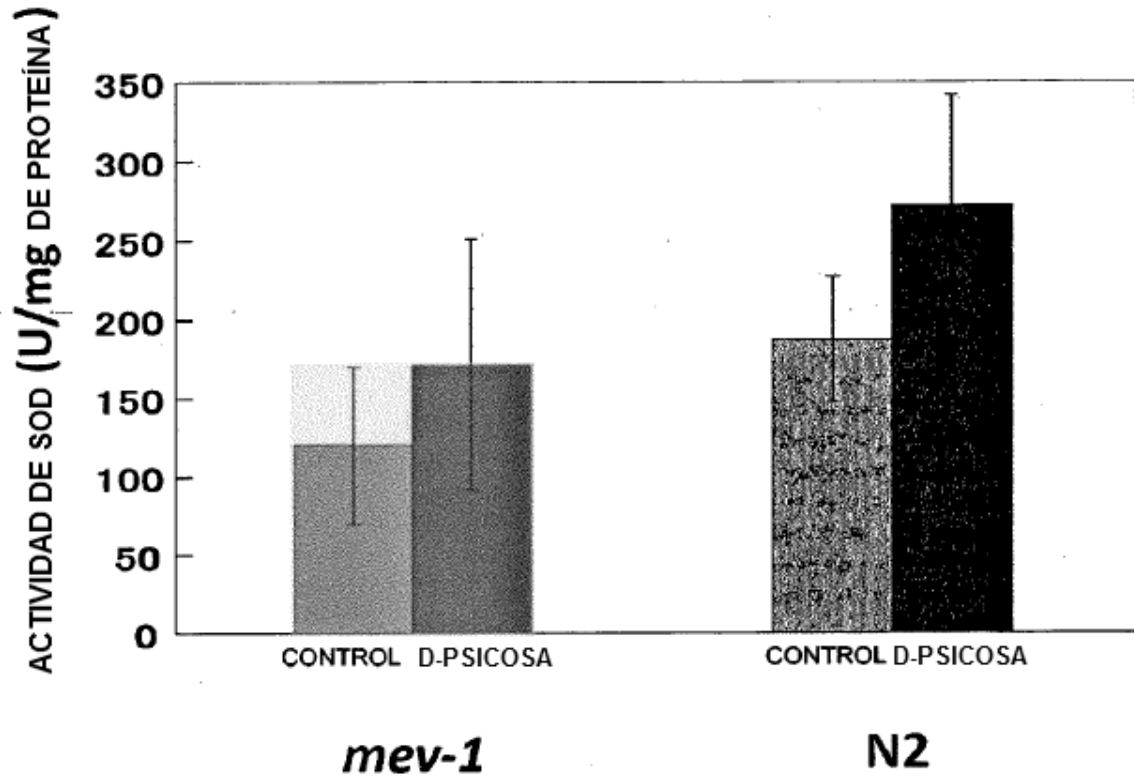
[Fig.4]



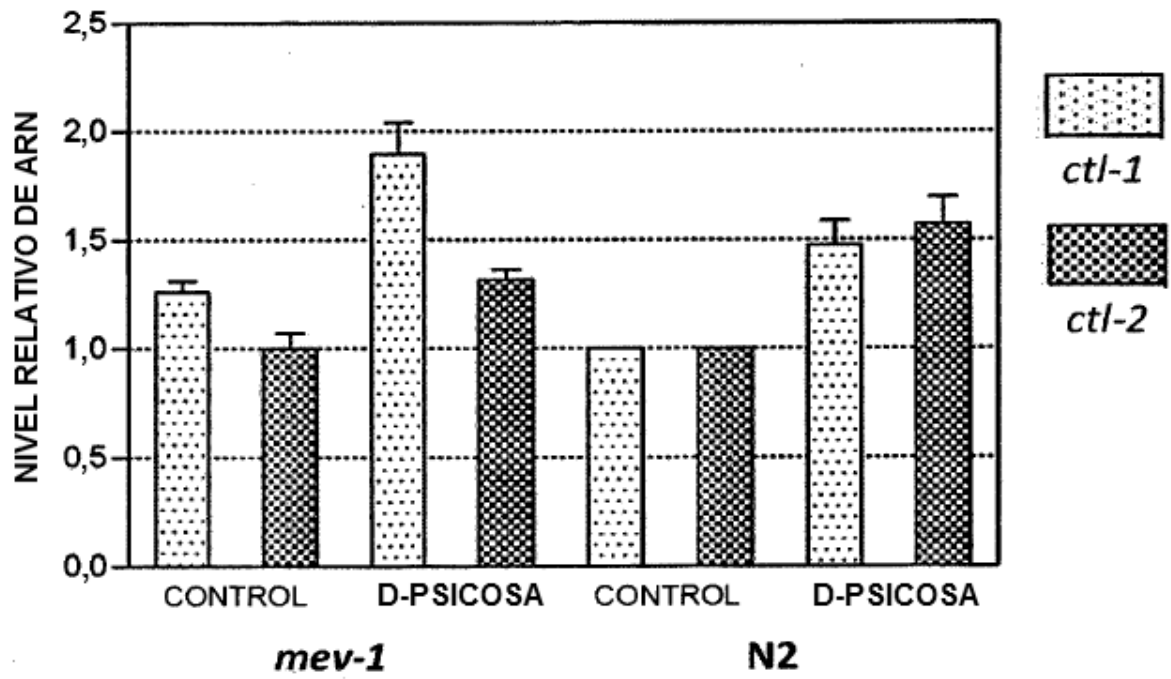
[Fig.5]



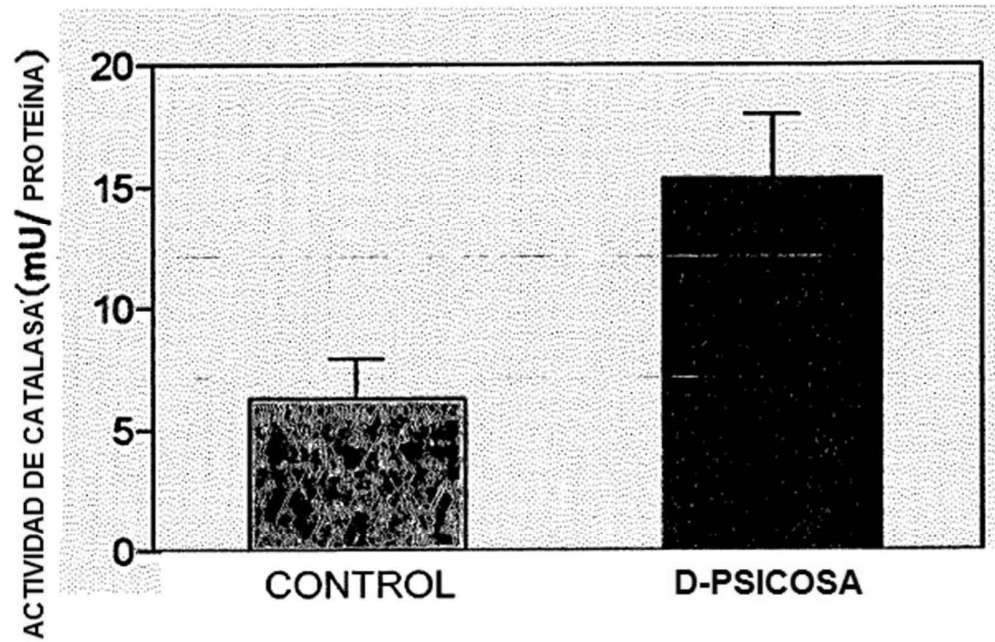
[Fig.6]



[Fig.7]



[Fig.8]



[Fig.9]

