

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 386 841**

51 Int. Cl.:
A61K 35/56 (2006.01)
A61K 35/60 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08164524 .4**
96 Fecha de presentación: **07.06.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1997498**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.12.2008**

54 Título: **Extractos de krill para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares**

30 Prioridad:
18.06.2001 US 298383 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
03.09.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
03.09.2012

73 Titular/es:
**NEPTUNE TECHNOLOGIES & BIORESSOURCES
INC.
500, BOULEVARD ST-MARTIN OUEST, BUREAU
500
LAVAL, QUEBEC H7M 3Y2, CA**

72 Inventor/es:
Sampalis, Tina

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

ES 2 386 841 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

Extractos de krill para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a extractos multiterapéuticos derivados de krill, que pueden prevenir y/o tratar varias enfermedades.

Descripción de la técnica anterior

10 Krill es el nombre común para pequeños crustáceos similares a los camarones, que sin embargo no son camarones, que se agrupan en densos bancos, especialmente en las aguas antárticas. Es una de las más importantes fuentes de alimento para los peces, algunas especies de aves y, especialmente, para ballenas barbadas, por ser una importante fuente de proteínas. El krill también es una buena fuente de ácidos grasos omega-3, que son bien conocidos por sus beneficios para la salud.

15 En la técnica se conoce el uso de krill y/o enzimas marinas para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades en seres humanos y animales, tales como infecciones, inflamaciones, cánceres, VIH/SIDA, dolor, pólipos, verrugas, hemorroides, placa, arrugas, pelos finos, picazón alérgica, anti-adherencia, enfermedad ocular, acné, fibrosis quística y trastornos inmunitarios incluyendo enfermedades autoinmunitarias y cáncer.

En la técnica también se sabe que el krill y/o aceite marino pueden usarse para el tratamiento de lupus murino autoinmunitario y otras enfermedades autoinmunitarias y también puede usarse para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

20 Sin embargo, el krill y/o aceite marino usados para estos tratamientos sólo han conservado sus ácidos grasos omega-3 como ingredientes activos, que son una parte muy pequeña de todos los ingredientes activos del propio krill y/o aceite marino. Este hecho reduce el potencial del krill y/o aceite marino para el tratamiento de estas enfermedades.

25 Existe una creciente demanda de tratamientos con productos derivados de una fuente natural, por lo tanto, sería muy deseable contar con un krill y/o un extracto marino con un mayor potencial para la prevención y/o el tratamiento y/o la gestión de la enfermedad.

SUMARIO DE LA INVENCION

30 De acuerdo con la presente invención, se da a conocer un procedimiento de prevención, terapia y/o tratamiento de varias enfermedades, comprendiendo el procedimiento la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de aceite de krill a un paciente.

En una realización preferida de la presente invención, el aceite de krill se obtiene a partir de un proceso que comprende las etapas de:

- 35 (a) colocar krill y/o material marino en un disolvente cetónico, preferentemente acetona, para conseguir la extracción de la fracción lipídica soluble del material animal marino y/o acuático;
- (b) separar el contenido líquido y el sólido;
- (c) recuperar una primera fracción rica en lípidos del contenido líquido mediante evaporación del disolvente presente en el contenido líquido;
- (d) colocar el contenido sólido en un disolvente orgánico seleccionado entre el grupo de disolventes constituido por alcohol, preferentemente etanol, isopropanol o t-butanol y ésteres de ácido acético, preferentemente acetato de etilo, para conseguir la extracción del resto de la fracción lipídica soluble del material marino y/o acuático;
- 40 (e) separar el contenido líquido y el sólido;
- (f) recuperar una segunda fracción rica en lípidos mediante evaporación del disolvente del contenido líquido, y
- (g) recuperar el contenido sólido.

45 En una realización preferida de la presente invención, el aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, α -tocoferol, retinol todo-trans, astaxantina y flavonoides.

50 En otra realización de la presente invención, el aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico, ácido linoleico, ácido araquidónico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido nervónico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, colesterol, triglicéridos, monoglicéridos, α -tocoferol, retinol todo-trans, astaxantina, cantaxantina, β -caroteno, flavonoides, cinc, selenio, sodio, potasio y calcio.

En otra realización de la presente invención, el aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico, ácido linoleico, ácido araquidónico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, colesterol, triglicéridos, monoglicéridos, α -tocoferol, retinol todo-trans, astaxantina, cantaxantina, β -caroteno, cinc y selenio.

Las enfermedades que pueden tratarse y/o prevenirse mediante el procedimiento de la presente invención son algunas enfermedades cardiovasculares, tal como se describe en las reivindicaciones 1 a 4.

De acuerdo con la presente invención, se da a conocer, además, el uso de aceite de krill para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades mencionadas anteriormente.

10 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

De acuerdo con la presente invención, se da a conocer un extracto de aceite de krill para la prevención y/o el tratamiento de varias enfermedades, tal como se describe en las reivindicaciones 1 a 4.

Un extracto de aceite multiterapéutico libre de enzimas se obtiene a partir de krill, que se encuentra en cualquier entorno marino en todo el mundo, por ejemplo, el océano Antártico (*Euphasia superba*), el océano Pacífico (*Euphasia pacifica*), el océano Atlántico, el Océano Índico, en particular las regiones costeras de Isla Mauricio y/o la isla de la Reunión de Madagascar, la costa oeste canadiense, la costa japonesa, el Golfo de San Lorenzo y la bahía de Fundy y este extracto de aceite es una fracción lipídica de ácidos grasos libres.

El proceso de extracción puede describirse de la siguiente manera:

- (a) Colocación de krill marino y/o acuático en un disolvente cetónico, preferentemente acetona, para conseguir la extracción de grasa del krill y/o marino;
- (b) Separación de las fases líquida y sólida;
- (c) Recuperación de una fracción rica en lípidos de la fase líquida obtenida en la etapa (b) mediante evaporación del disolvente presente en la fase líquida;
- (d) Colocación de la fase sólida en un disolvente orgánico, que puede ser alcohol, preferentemente etanol, isopropanol o t-butanol, o ésteres de ácido acético, preferentemente acetato de etilo. Esto para extraer el resto de la fracción lipídica soluble de la fase sólida;
- (e) Separación de las fases líquida y sólida, y
- (f) Recuperación de una fracción rica en lípidos de la fase líquida obtenida en la etapa (e) mediante evaporación del disolvente presente en la fase líquida.

30 Los componentes activos del extracto de aceite de krill libre de enzimas son los siguientes:

Lípidos

i) Omega-3:

- i. Ácido eicosapentanoico: >8 g/100 g
- ii. Ácido docosahexanoico: >2 g/100 g
- iii. Ácido linolénico: >0,10 g/100 g
- iv. Ácido alfa-linolénico: >0,3 g/100 g

En la realización preferida de la presente invención, el omega-3 se encuentra en más de 30 g/100 g.

- ii) Omega-6: i. Ácido linoleico: >0,9 g/100 g
- ii. Ácido araquidónico: <0,45 g/100 g, preferentemente <0,6 g/100 g
- iii) Omega-9: i. Ácido oleico: >5 g/100 g
- iv) ácido palmítico: >10 g/100 g
- v) ácido palmitoleico: 0,08 g/100 g
- vi) ácido esteárico: >0,5 g/100

Fosfolípidos

- Fosfatidilcolina: >4,5 g/100 g
- Fosfatidilinositol: >107 mg/100 g
- Fosfatidilserina: >75 mg/100 g
- Fosfatidiletanolamina: >0,5 g/100 g
- Esfingomielina: >107 mg/100 g

Lípidos neutros

- Colesterol: <3 g/100 g
- Triglicéridos: <55 g/100 g

Monoglicéridos: >0,5 g/100 g
 En otra realización de la presente invención, los lípidos neutros del extracto de krill también comprenden:
 Diglicéridos: >0,5 g/100 g

Antioxidantes

5 α-tocoferol (vitamina E): >1,0 UI/100 g
 retinol todo-trans (vitamina A): >1500 UI/100 g
 β-caroteno: >3000 µg/100 ml

Pigmentos

10 Astaxantina: >20 mg/100 g
 Cantaxantina: >2 mg/100 g

Metales

15 Cinc: >0,1 mg/100 g
 Selenio: >0,1 mg/100 g
 En otra realización de la presente invención, el extracto de krill también comprende:
 15 Flavonoides: >0,5 mg/100 g
 Sodio: <500 mg/100 g
 Calcio: >0,1 mg/100 g
 Potasio: >50 mg/100 g
 Aluminio: <8,5 mg/100 g
 20 Proteínas: >4 g/100 g
 Humedad y materias volátiles: <0,8 %

Después de la caracterización del extracto de aceite de krill, se determinó que el extracto contiene menos de 25 ppm de residuo de disolvente del proceso de extracción.

El aceite tiene los siguientes índices de estabilidad:

25 Índice de peróxidos: <0,1 (mEq/kg)
 Índice de estabilidad del aceite: <0,1 después de 50 horas a 97,8 °C
 Índice de saponificación: 70-180
 30 Índice de yodo: 60-130 %

La presente invención se entiende más fácilmente en referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Prevención y/o tratamiento de una enfermedad cardiovascular

35 El aceite de krill ha demostrado reducir el colesterol *in vivo*. También inhibe la agregación plaquetaria y la formación de placas y reduce la inflamación del endotelio vascular en un paciente. Puede ofrecer profilaxis contra la hipertensión. Previene la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad. Puede tener un efecto inhibitorio sobre la secreción de VLDL debido al aumento de la degradación intracelular de la apo B-100. También ofrece una profilaxis post-infarto de miocardio, debido a su capacidad para disminuir la apolipoproteína CIII B, para disminuir las lipoproteínas no apolipoproteína CIII B y aumentar los niveles de antitrombina III. El aceite de krill es adecuado para
 40 uso profiláctico contra una enfermedad cardiovascular en seres humanos, donde enfermedad cardiovascular se refiere a enfermedad arterial coronaria, hiperlipidemia, hipertensión, enfermedad isquémica (relacionada con la angina de pecho, infarto de miocardio, isquemia cerebral, shock, sin evidencia clínica o de laboratorio de isquemia, arritmia).

45 Para evaluar los efectos del aceite de krill sobre el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria arterioesclerótica y la hiperlipidemia, se realizó un estudio (ensayo clínico prospectivo, significación estadística p <0,05) con pacientes con hiperlipidemia conocida.

Un grupo de 13 pacientes tomó cápsulas de concentrado aceite de krill. Tanto el aceite de pescado como el aceite de krill contenían cantidades iguales de ácidos grasos omega-3. La dosis recomendada es de 1 a 6 cápsulas por día, con un contenido cada una de 800 mg de aceite. En este estudio, cada paciente tomó 6 cápsulas al día.

50 A los pacientes se les realizaron pruebas de LDL, HDL, triglicéridos, constantes vitales, CBC, SGOT/SGPT, γ-GT, ALP, urea, creatina, glucosa, K⁺, Na⁺, Ca²⁺ y la bilirrubina indirecta total de colesterol antes del tratamiento y también a los 2 meses.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos de las pruebas descritas anteriormente:

Tabla 1

| Ensayo de muestras emparejadas | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------|----------------|----------------------------|--|----------|---------|--------------------|----------------|
| Diferencias emparejadas | | | | | | | | |
| Parámetro ensayado | Media | Desv. estándar | Desv. estándar de la media | Intervalo de confianza del 95 % de la diferencia | | Valor t | Grados de libertad | Sig. (2 colas) |
| | | | | Inferior | Superior | | | |
| Colesterol | 0,4954 | 0,55800 | 0,15476 | 0,1582 | 0,8326 | 3,201 | 12 | 0,008 |
| Triglicéridos | 0,3538 | 0,54543 | 0,15127 | 0,0242 | 0,6834 | 2,339 | 12 | 0,037 |
| HDL | -0,2108 | 0,29859 | 0,08281 | -0,3912 | -0,0303 | -2,545 | 12 | 0,026 |
| LDL | 0,2846 | 0,47333 | 0,13128 | -0,0014 | 0,5706 | 2,168 | 12 | 0,051 |
| Col / HDL | 0,3600 | 0,53446 | 0,14823 | 0,0370 | 0,6830 | 2,429 | 12 | 0,032 |

5 A partir de lo anterior, se demostró que un consumo diario de 1 a 4,8 g de extracto de krill proporcionaba a los pacientes una disminución del colesterol en torno al 15 %, una disminución de los triglicéridos en torno al 15 %, un aumento de HDL en torno al 8 %, una disminución de LDL en torno al 13 % y una disminución de colesterol/HDL del 14 %.

Esto demuestra que el consumo de extracto de krill tiene un efecto beneficioso en los pacientes que padecen hiperlipidemia, que es conocida por ser el principal factor causante de aterosclerosis.

Los ejemplos 2 a 11 no forman parte de la invención.

10 **Ejemplo 2**

Tratamiento de la artritis

15 El krill y/o el aceite marino ofrecen alivio sintomático de la artritis, donde artritis se refiere a artritis en adultos, enfermedad de Still, artritis reumatoide juvenil poli- o pauciarticular, artritis reumatoide, artrosis, dado que ha demostrado que proporciona una mejoría clínica al reducir el número de articulaciones sensibles y de analgésicos que se consumen diariamente, reduciendo la producción de interleuquina-8 e interleuquina-1 en pacientes humanos. Los pacientes con una tendencia a hemorragia o enfermedad psiquiátrica grave fueron excluidos del estudio.

20 Para evaluar los efectos de la administración de suplementos de krill y/o aceite marino sobre el desarrollo clínico de la artrosis, se realizó un estudio (ensayo clínico prospectivo, significación estadística $p < 0,05$) con los pacientes con diagnóstico y tratamiento para la artrosis, que es clase activa I, II o III, y teniendo en el tratamiento con AINE y/o analgésicos durante al menos 3 meses antes de la inscripción.

Un grupo de 13 pacientes tomaron cápsulas de concentrado de krill y/o aceite marino, a una posología diaria de 6 cápsulas de 800 mg de aceite de krill por cápsula. La dosis recomendada varía entre 1 y 4,8 gramos de extracto puro de krill al día. Se pidió a los pacientes que siguieran una dieta saludable normal constituida por el 20 % de grasas (menos del 10 % de grasas animales), el 40 % de proteínas y el 40 % de carbohidratos.

25 Los criterios de inclusión para el estudio son tener una edad comprendida entre 50 y 65 años, siendo admisibles ambos sexos, con un diagnóstico clínico de la artrosis primaria (de leve a moderada) de 6 a 12 meses antes de la inscripción en el estudio, incluyendo dolor y rigidez, confirmación radiográfica de la enfermedad antes de la inscripción. Esto incluye también la prueba de síntomas medibles de artrosis durante al menos 3 meses antes de la inscripción en el estudio que requiere el uso de acetaminofeno, anti-inflamatorios o analgésicos opioides. Se pidió a los pacientes que interrumpieran el uso de todos los analgésicos la semana antes del inicio del ensayo, con fines de lavado.

35 Los criterios de exclusión fueron osteoartritis grave, uso sostenido inevitable de los AINE, aspirina u otros medicamentos para uso anti-inflamatorio, uso de analgésicos tópicos en las 4 semanas previas a la consulta de aleatorización, inyección de esteroides en cualquiera de las rodillas, en los últimos 3 meses, inicio de la terapia física o acondicionamiento muscular en un plazo de 3 meses, alergias al marisco, uso de anticoagulantes o salicilatos, consumo de alcohol superior a 3 combinados al día, enfermedad médica/artrítica concurrente que pudiera confundir

o interferir en la evaluación del dolor, antes de la cirugía (incluyendo artroscopia) de cualquier rodilla, una causa "secundaria" conocida de artrosis.

5 La evaluación se basaba en la dosis diaria de AINE (anti-inflamatorios no esteroideos) y/o analgésicos y/o FARAL (fármacos anti-reumáticos de acción lenta), el número de articulaciones dolorosas, el número de articulaciones inflamadas o la duración de la rigidez matinal, la escala analógica visual (0-100) WOMACscale y SF36. Los resultados preliminares se han obtenido después de 2 meses. El número de los AINE y/o analgésicos y/o FARAL requeridos para la actividad diaria se ha registrado al inicio y 2 meses después del inicio.

Los resultados mostrados en la tabla 2 demuestran el efecto de un consumo de extracto de krill sobre el alivio de la artritis.

10 **Tabla 2**

| | Frecuencia | % | % válido | % acumulativo |
|-------------------------|------------|-------|----------|---------------|
| Sin cambios | 3 | 23,1 | 23,1 | 23,1 |
| Alivio del dolor | 10 | 76,9 | 76,9 | 100,0 |
| Total | 13 | 100,0 | 100,0 | |

Esto demuestra que diez de 13 (76,9%) personas notificaron un alivio del dolor y una mejora de la flexibilidad de las articulaciones grandes significativos (parte inferior de la espalda, rodillas, hombros).

Ejemplo 3

15 **Profilaxis del cáncer de piel**

El krill y/o el aceite marino han demostrado ser un profiláctico contra el cáncer de piel debido a su efecto anti-cancerígeno del retinol, al efecto anti-cancerígeno de la astaxantina y al efecto anti-cancerígeno de los fosfolípidos.

20 Para evaluar el potencial fotoprotector del krill y/o aceite marino contra el cáncer de piel inducido por rayos UVB, se realizó un estudio en ratones desnudos, preferentemente en Ratones Desnudos Congénicos C57BL6-B6NU-T (heterocigotos), debido a su probada susceptibilidad al cáncer de piel.

25 Se formaron grupos de la siguiente manera: 48 de aceite de pescado: 16 con la administración oral de suplementos (po), 16 con aplicación local y 16 con po y aplicación local; 48 de krill y/o aceite marino: 16 con po, 16 con aplicación local, 16 con po y aplicación local. Con el fin de establecer la eficacia de krill y/o del aceite marino para la prevención del cáncer de piel, la prueba se llevó a cabo como un ensayo controlado aleatorizado enmascarado (significación estadística $p < 0,05$). La mitad de los ratones ha sido tratada por vía oral o tópica, o ambas, con el aceite que contiene el 100 % en peso de krill y/o de aceite marino y la otra mitad se ha tratado del mismo modo con aceite de pescado.

30 La alimentación fue con pienso sin grasa durante la primera semana y se modificó en consecuencia con el grupo asignado, tal como se describe a continuación, durante las siguientes 2-20 semanas en la cantidad de 1 ml de aceite al día.

Los ratones se dividieron en seis grupos de la siguiente manera:

- Grupo A: pienso sin grasa con la administración de suplementos de aceite de pescado (20 % de las calorías totales)
- 35 Grupo B: pienso sin grasa (100 % de las calorías) + aplicación local de aceite de pescado 2 veces al día
- Grupo C: pienso sin grasa con la administración de suplementos de aceite de pescado (20 % de las calorías totales) + aplicación local de aceite de soja 2 veces al día
- Grupo D: pienso sin grasa con la administración de suplementos de krill y/o aceite marino (20 % de las calorías totales)
- 40 Grupo E: pienso sin grasa (100 % de las calorías) + aplicación local de krill y/o aceite marino 2 veces al día
- Grupo F: pienso sin grasa con la administración de suplementos de krill y/o aceite marino (20 % de las calorías totales) + aplicación local de krill y/o aceite marino 2 veces al día.

45 Los ratones habían sido sometidos a radiación UVB usando una lámpara fluorescente de ensayo, espectro de emisión de 270-400 nm durante las semanas 2 a 20. El ensayo se realizó durante 30 minutos de exposición a los rayos UVB al día y la lámpara de ensayo estaba a una distancia de 30 cm de los ratones. Al término de las 20 semanas, o cuando se habían formado los tumores malignos, los ratones fueron anestesiados con éter y sacrificados. La piel fue examinada "de forma enmascarada" por patólogos en busca de signos de carcinogénesis.

En las siguientes tablas (tablas 3-8) se muestran los resultados obtenidos sobre la incidencia de cáncer cuando se administran las radiaciones ultravioleta a la piel de ratones durante 5 semanas.

Tabla 3

| Consumo de extracto de krill por vía oral | | | | | |
|--|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | Benigno | 14 | 87,5 | 87,5 | 87,5 |
| | Cáncer | 2 | 12,5 | 12,5 | 100,0 |
| | Total | 16 | 100,0 | 100,0 | |

5 **Tabla 4**

| Consumo de control por vía oral | | | | | |
|--|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | Benigno | 14 | 87,5 | 87,5 | 87,5 |
| | Cáncer | 2 | 12,5 | 12,5 | 100,0 |
| | Total | 16 | 100,0 | 100,0 | |

Tabla 5

| Absorción de extracto de krill por vía tópica | | | | | |
|--|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | BENIGNO | 16 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

Tabla 6

| Absorción de control por vía tópica | | | | | |
|--|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | BENIGNO | 5 | 31,3 | 31,3 | 31,3 |
| | Cáncer | 11 | 68,8 | 68,8 | 100,0 |
| | Total | 16 | 100,0 | 100,0 | |

10

Tabla 7

| Consumo de extracto de krill por vía tópica y vía oral | | | | | |
|---|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | BENIGNO | 16 | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

Tabla 8

| Consumo de control por vía tópica y vía oral | | | | | |
|---|---------|------------|------------|-------------------|------------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulativo |
| Válido | BENIGNO | 10 | 62,5 | 62,5 | 62,5 |
| | Cáncer | 6 | 37,5 | 37,5 | 100,0 |
| | Total | 16 | 100,0 | 100,0 | |

Los resultados obtenidos muestran que, tanto el uso oral como el uso tópico de aceite de krill, son eficaces para la protección de la piel contra los efectos nocivos del cáncer de piel inducido por radiación UVB.

5 **Ejemplo 4**

Transporte transdérmico en aplicaciones terapéuticas

El krill y/o aceite marino aumentan el transporte transdérmico como sustrato para aplicaciones terapéuticas dermatológicas tópicas. Pueden usarse en tratamientos dermatológicos mediante cremas, pomadas, geles, lociones y aceites. También pueden usarse en diversas aplicaciones terapéuticas como las relativas a anestésicos, corticoides, anti-inflamatorios, antibióticos y funciones cetolíticas.

Para evaluar la eficacia de krill y/o aceite marino como sustrato para tratamientos tópicos y la velocidad de absorción transdérmica de krill y/o aceite marino, o solo como un sustrato, se realizó un estudio como un ensayo controlado aleatorizado enmascarado en ratones desnudos congénicos C57BL6 - B6NUT (heterocigotos).

Los resultados que aparecen en las tablas 5 y 6 muestran que el tratamiento tópico con aceite de krill facilita la absorción de retinol y otros antioxidantes a través de la dermis lo que, a su vez, da como resultado un significativo potencial fotoprotector que, a su vez, proporciona un 100 % de protección contra el cáncer de piel inducido por UVB. Por el contrario, el aceite de pescado con aplicación de retinol todo-trans dio como resultado un 68,8 % de incidencia de cáncer.

Ejemplo 5

Transporte transdérmico para aplicaciones cosméticas dermatológicas tópicas

El krill y/o el aceite marino pueden usarse para mejorar el transporte transdérmico como sustrato para aplicaciones cosméticas dermatológicas tópicas, donde las aplicaciones cosméticas hacen referencia a la hidratación de la piel, anti-arrugas, ceratolíticos, exfoliación y mascarilla mediante cremas, pomadas, geles, lociones o aceites.

Para evaluar los efectos de krill y/o de aceite marino sobre el envejecimiento y sobre las arrugas faciales, se realizó un estudio como un ensayo clínico prospectivo en pacientes preocupadas por la sequedad y las arrugas faciales. Esas pacientes no presentaban ningún pronóstico gravemente limitado por otra afección dermatológica o no-dermatológica, tendencia a hemorragias ni enfermedad psiquiátrica grave.

13 mujeres caucásicas sanas con sequedad o arrugas faciales se han incluido en este estudio. A las mujeres se les pidió que tomaran 6 cápsulas al día, con un contenido cada una de 800 mg de extracto de krill. La dosis diaria recomendada es de aproximadamente 1 a 4,8 g de extracto de krill.

La tabla 9 muestra los resultados obtenidos sobre la hidratación de la piel tras seguir el procedimiento descrito anteriormente.

Tabla 9

| Cambios en la hidratación de la piel | | | | |
|---|------------|-------|----------|---------------|
| | Frecuencia | % | % válido | % acumulativo |
| Sin cambios | 4 | 30,8 | 30,8 | 30,8 |
| Hidratación | 9 | 69,2 | 69,2 | 100,0 |
| Total | 13 | 100,0 | 100,0 | |

Los resultados del estudio piloto después de 2 meses indican que nueve de cada 13 (69,2 %) personas notificaron una mejora significativa de la hidratación, la textura y la elasticidad de la piel (cara, manos y brazos) en pacientes humanos.

5 Además, estos resultados también son indicativos de que el extracto de krill es útil para el tratamiento anti-arrugas. El mecanismo del retinol todo-trans, que está incluido en el aceite de krill, como anti-arrugas, funciona de la siguiente manera:

- Regeneración y efectos anti-inflamatorios característicos
- Mejora del riego sanguíneo
- Aumento de la regeneración de la epidermis con incremento de la tasa de división y renovación celulares
- 10 - Aceleración de la diferenciación de la queratina
- Regeneración del colágeno
- Permite a las células en la capa superior de la piel, que están siendo sustituidas constantemente, madurar de forma más normal que las células dañadas por el Sol no tratadas
- Reducción de la activación de las enzimas que descomponen las proteínas, colágeno y elastina que
- 15 proporcionan soporte estructural a la piel.

Los resultados obtenidos con el extracto de krill administrado a una paciente sobre la piel demuestran que el extracto de krill está teniendo un efecto anti-arrugas que aumenta la hidratación y sigue el mecanismo descrito anteriormente.

Ejemplo 6

20 **Síndrome premenstrual**

La tabla 10 muestra los resultados obtenidos a partir del uso de aceite de krill para reducir el dolor y los cambios de humor asociados con el síndrome premenstrual en mujeres. Se administró extracto de aceite de krill a 7 mujeres durante 2 meses. Las mujeres estaban tomando 6 cápsulas de extracto de krill al día, con un contenido cada una de 800 mg de aceite de krill. Se recomienda una ingesta diaria de aceite de krill de aproximadamente 1 a 4,8 gramos. A

25 todas las participantes se les aconsejó que continuaran con sus hábitos de alimentación habituales y que se abstuvieran de iniciar cualquier restricción en su dieta. No se notificó ningún efecto adverso grave.

Todas las mujeres inscritas informaron de un notable malestar emocional y/o físico de 7 a 10 días antes de la menstruación. Una escala analógica visual de autoevaluación validada para la evaluación del síndrome premenstrual, que va desde 0 (sin síntomas) a 10 (insoportable), se usó como un resultado primario, para evaluar el

30 efecto del extracto de krill sobre las molestias premenstruales.

El análisis de los datos se ha realizado sobre el 60 % de las mujeres que participaron en el estudio y completaron un régimen de dos meses. La mayoría de las mujeres (73,3 %) mostró una reducción clínicamente significativa de la angustia emocional y física antes de la menstruación (véase la tabla 10).

Tabla 10

| Distribución de frecuencia del efecto del extracto de krill sobre la sintomatología del síndrome premenstrual | | | |
|--|------------------------|-----------------|----------------------|
| Síntomas del SPM | % de frecuencia | % válido | % acumulativo |
| Sin cambios | 26,7 | 26,7 | 26,7 |
| Positiva | 73,3 | 73,3 | 100,0 |
| Total | 100,0 | 100,0 | |

35

Ejemplo 7

Diabetes

8 pacientes humanos estuvieron tomando el extracto de krill con una posología de 6 cápsulas al día, con un contenido cada una de 800 mg de extracto de krill, durante 2 meses. Se recomienda una ingesta diaria de aceite de krill de aproximadamente 1 a 4,8 gramos. La tabla 11 muestra la variación de la prueba de glucosa en los pacientes

40 después de 2 meses.

Tabla 11

| Variación de la glucosa en pacientes | | | | | | | |
|---|--------------|-----------------------|-----------------------------------|--|----------------|---------------------------|-----------------------|
| Diferencias emparejadas | | | | | | | |
| Parámetro ensayado | Media | Desv. estándar | Desv. estándar de la media | Intervalo de confianza del 95% de la diferencia | Valor t | Grados de libertad | Sig. (2 colas) |
| Glucosa | 0,5778 | 0,60369 | 0,20123 | 0,1137 – 1,0418 | 2,871 | 8 | 0,021 |

5 Se obtuvo una disminución de glucosa en sangre del 20 % para los pacientes que tomaban el extracto de krill, lo que demuestra que el consumo de un extracto de krill controla el contenido de glucosa en sangre y, por lo tanto, la diabetes en pacientes humanos.

10 Aunque la invención se ha descrito en relación con realizaciones específicas de la misma, se entenderá que es capaz de sufrir modificaciones adicionales y la presente solicitud pretende abarcar cualesquiera variaciones, usos o adaptaciones de la invención siguiendo, en general, los principios de la invención e incluyendo desvíos de la presente divulgación tales como dentro de la práctica habitual en la técnica a la que pertenece la invención y que puedan aplicarse a las características esenciales descritas anteriormente, y tal como sigue en el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende aceite de krill en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para inhibir la agregación plaquetaria y la formación de placa en las arterias de un paciente.
- 5 2. Composición que comprende aceite de krill en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para prevenir hipertensión en un paciente.
3. Composición que comprende aceite de krill en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para reducir la inflamación endotelial vascular en un paciente.
4. Composición que comprende aceite de krill en asociación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para aumentar las HDL en un paciente.
- 10 5. La composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho aceite de krill contiene ácido eicosapentanoico (EPA), ácido docosahexanoico (DHA) y un antioxidante.
6. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, α -tocoferol, astaxantina y flavonoide.
- 15 7. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, α -tocoferol, retinol todo-trans, astaxantina y flavonoide.
- 20 8. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho aceite de krill comprende ácido eicosapentanoico, ácido docosahexanoico, ácido linolénico, ácido alfa-linolénico, ácido linoleico, ácido araquidónico, ácido oleico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido esteárico, ácido nervónico, fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, colesterol, triglicéridos, monoglicéridos, α -tocoferol, retinol todo-trans, astaxantina, cantaxantina, β -caroteno, flavonoide, cinc, selenio, sodio, potasio y calcio.
- 25 9. La composición para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en la que el aceite de krill puede obtenerse a partir de un proceso que comprende las etapas de:
 - (a) colocación de krill y/o material marino en un disolvente cetónico, preferentemente acetona, para conseguir la extracción de la fracción lipídica soluble de dicho krill y/o material marino;
 - (b) separación de las fases líquida y sólida;
 - 30 (c) recuperación de una primera fracción rica en lípidos de la fase líquida obtenida en la etapa (b) mediante evaporación del disolvente presente en la fase líquida;
 - (d) colocación de la fase sólida en un disolvente orgánico, seleccionado entre el grupo constituido por alcohol, preferentemente etanol, isopropanol o t-butanol y ésteres de ácido acético, preferentemente acetato de etilo, para conseguir la extracción del resto de la fracción lipídica soluble de la fase sólida;
 - (e) separación de las fases líquida y sólida, y
 - 35 (f) recuperación de una segunda fracción rica en lípidos de la fase líquida obtenida en la etapa (e) mediante evaporación del disolvente presente en la fase líquida.