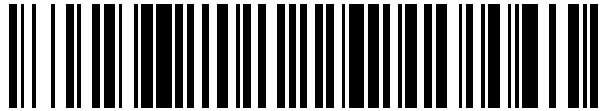


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 013**

51 Int. Cl.:

A23L 1/00 (2006.01)
A23L 1/035 (2006.01)
A61K 47/12 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A23L 1/30 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/575 (2006.01)
A61K 47/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.02.2009 E 09708508 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.12.2014 EP 2278890**

54 Título: **Composiciones de fitosteroles con biodisponibilidad potenciada**

30 Prioridad:

06.02.2008 SE 0800272

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

23.03.2015

73 Titular/es:

**EDIO HEALTHCARE AB (100.0%)
Industrivägen 4
449 44 Nol, SE**

72 Inventor/es:

**BOLKHOVETS, SERGEJ y
KUMPULAINEN, ATTE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 532 013 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

Composiciones de fitosteroles con biodisponibilidad potenciada

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones y preparaciones, con particular énfasis en tabletas o píldoras, para el consumo de fitosteroles con vistas a reducir los niveles sanguíneos de colesterol.

Antecedentes de la invención

10 El origen de la enfermedad cardiovascular en los individuos presenta a menudo un fondo complejo a causa de problemas hereditarios y relacionados con la edad, pero, además, también depende del estilo de vida, los llamados factores de riesgo modificables. Cuando se añaden todos, estos factores pueden ser aplicados para explicar el riesgo individual de desarrollar una enfermedad cardiovascular [1, 2]. Uno de estos factores es la concentración sanguínea de colesterol. Los niveles séricos elevados de colesterol, y en particular los niveles elevados de lipoproteína de baja densidad (LDL; del inglés, *low density lipoprotein*)-colesterol, están epidemiológicamente muy ligados a un aumento de la probabilidad de desarrollar una enfermedad cardiovascular [3].

15 La clasificación de las partículas vehiculares de colesterol circulantes procede de su sedimentación bajo centrifugación. En consecuencia, se hace referencia a ellas como lipoproteínas de densidad muy baja, baja, intermedia y elevada. La lipoproteína de alta densidad (HDL; del inglés, *high density lipoprotein*) está, a diferencia de las otras partículas, epidemiológicamente ligada a una disminución del riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular.

20 Sobre todo, dos proteínas están asociadas con las diferentes partículas, la lipoproteína A1, asociada con HDL, y la lipoproteína B, asociada con VLDL, LDL e IDL. Puesto que las proteínas se encuentran en números discretos para cada una de las partículas, por ejemplo, se encuentra una copia de apolipoproteína B por cada partícula de LDL, parece que determinar la concentración sanguínea de apolipoproteínas produce eficazmente una medida del número de partículas en circulación. En general, se acepta hoy en día que un objetivo de tratamiento debería incluir también mejorar las lipoproteínas, y, en consecuencia, la determinación de las concentraciones de lipoproteínas así como de las concentraciones sanguíneas de colesterol se está volviendo cada vez más un asunto rutinario en la práctica clínica [4].

30 El colesterol es una parte vital de las células de los animales eucariontes, con una importante función en cuanto a equilibrar la fluidez de la membrana celular. Además, el colesterol es el material de partida para la biosíntesis de, por ejemplo, vitamina D, ácidos cólicos y diversas hormonas [5]. Por otro lado, para funciones similares, las células vegetales dependen de una familia completa de fitosteroles químicamente muy relacionados. La principal diferencia entre los fitosteroles y el colesterol radica en una sustitución (comúnmente de metilo o etilo) en el carbono 24 según la nomenclatura de los esteroides [6].

35 Los esteroides pertenecen a la categoría de los triterpenos. Hasta la fecha ya se han aislado 4000 triterpenos diferentes; aproximadamente 100 de estos pueden ser clasificados como fitosteroles [7, 8]. Resulta interesante que las células vegetales han desarrollado una multitud de esteroides, mientras que las células animales sólo han conservado uno, el colesterol. Entre los fitosteroles los más prevalentes son los llamados 4-desmetil-esteroides, de los cuales el sitosterol, el estigmasterol, el campesterol, el brassicasterol y el avenasterol son los más prevalentes. Los 4-metil- y 4,4-dimetil-esteroides son normalmente menos abundantes y se usan como materia prima para la biosíntesis de 4-desmetil-esteroides [8]. Además, los esteroides más comúnmente hallados llevan generalmente un doble enlace en el carbono 5; a estos se hace referencia más adelante como Δ^5 -esteroides. Los esteroides completamente saturados, llamados estanoles, pueden ser también aislados de fuentes cereales, en particular de centeno y trigo. Se pueden extraer fitosteroles de las partes oleosas de la planta y, por lo tanto, también de los correspondientes aceites vegetales, tales como los aceites de maíz y variedades de colza y el talloil [9].

45 Puesto que los fitosteroles se encuentran en casi todos los materiales vegetales, las dietas occidentales típicas contienen de unos 100 a 400 mg de fitosteroles por día, estando colocada evidentemente la dieta de los vegetarianos en la parte superior de este intervalo [10]. A pesar de las grandes similitudes químicas entre el colesterol y los fitosteroles, se puede detectar una acusada diferencia en la respuesta al consumo de estas moléculas. Mientras que el colesterol es eficazmente absorbido en el intestino, los fitosteroles, por otra parte, apenas son absorbidos en absoluto para todas las finalidades prácticas. Más aún, hay diferencias absolutas en la respuesta a las diferentes moléculas en el suero. El colesterol se almacena en el organismo, mientras que los fitosteroles normalmente son rápidamente expulsados a través de la bilis. Las diferencias moleculares dan lugar al bloqueo eficaz de la absorción del colesterol en el intestino por parte de los fitosteroles.

Las propiedades de los fitosteroles en cuanto a reducir el nivel de colesterol fueron documentadas por vez primera a principio de los años 50 con los estudios llevados a cabo por Peterson sobre la absorción de colesterol en gallinas

5 alimentadas con pienso enriquecido con fitosteroles [11]. El conocimiento del efecto de los fitosteroles sobre animales y sujetos humanos fue mejorado con el trabajo de Pollak, Best y Farquar y muchos otros [12]. Típicamente, se alcanza una reducción del nivel de colesterol del orden del 10% tras el consumo de dosis adecuadas de fitosteroles, con una disminución casi exclusiva de los niveles séricos de LDL-colesterol; ni los niveles séricos de HDL-colesterol ni los de triglicéridos resultan significativamente afectados [13].

10 Ya en 1955 Eli Lilly lanzó Cytellin, una preparación para reducir los niveles de colesterol basada en fitosteroles cristalinos. El producto presentaba algunos defectos graves, tal como un mal perfil sensorio y, más importantemente, una sustancial dosis diaria necesaria para la eficacia clínica, en el intervalo de decenas de gramos. Por consiguiente, el producto fue retirado del mercado en 1982. Sin embargo, en 1995, Raisio lanzó Benecol[®], una pasta
15 grasa amarilla para untar basada en un método patentado para preparar estanoles, esteroides hidrogenados, esterificados con ácidos grasos. Al unir el estanol con ácidos grasos por medio de esterificación se obtuvo un aumento de la solubilidad en aceite de un orden de magnitud. Además, se observó un considerable aumento de la eficacia fisiológica del estanol/esterol, pudiéndose alcanzar una reducción del nivel de LDL-colesterol de 10 a 15% con dosis diarias en el intervalo de 1 a 3 gramos. Desde 1995 se ha presentado una diversidad de productos y soluciones técnicas similares [9].

20 Se han presentado diversas teorías para explicar el mecanismo de la reducción del nivel de colesterol por los fitosteroles, por ejemplo, competición en micelas en el intestino, bloqueo de receptores celulares en la pared intestinal y/o aumento del transporte inverso de vuelta a la luz intestinal. Independientemente del mecanismo exacto, la eficacia de la reducción del nivel de colesterol depende de la reducción de la absorción de colesterol en el suero en aproximadamente un 50%. Resulta importante que los propios fitosteroles son escasamente absorbidos, aproximadamente un 5% en comparación con aproximadamente un 60% para el colesterol. Además, la rápida expulsión a través de la vía biliar reduce el nivel de fitosterol circulante a menos del 1% del conjunto total de esteroides en un individuo sano. Más aún, los fitosteroles no se convierten en colesterol, ni viceversa, en los mamíferos, por lo que los fitosteroles circulantes sólo proceden de alimentos consumidos. Sin embargo, ni los fitosteroles cristalinos ni los ésteres de fitosterol son en realidad directamente asequibles para los fines de reducir el
25 nivel de colesterol, sino que las moléculas de fitosterol han de residir en una forma hidrolizada y disociada para afectar activamente al proceso de absorción de colesterol en el intestino [14].

30 Las soluciones técnicas para suministrar preparaciones enriquecidas en fitosterol pueden ser subdivididas en dos categorías principales, a saber: i) fitosteroles químicamente alterados, es decir, mediante enlaces covalentes, por ejemplo, fitostanoles o fitosteroides esterificados; y ii) fitosteroides fisicoquímicamente modificados, que dependen de interacciones físicas débiles para que las moléculas de fitosterol se mantengan en una forma biodisponible y fisiológicamente activa.

35 A causa de su bajo punto de fusión y su aumentada solubilidad en aceite, los fitosteroides esterificados, al formar emulsiones con ácidos cólicos y lípidos parcialmente hidrolizados, pueden formar normalmente sistemas que presentan gotas de tamaño bastante pequeño y, por lo tanto, una superficie específica grande, fácilmente asequibles para la actividad lipasa en el intestino. A su vez, la lipasa hidroliza el enlace covalente entre el ácido graso y el fitosterol, liberando fitosteroides en forma monomolecular fisiológicamente activa.

40 Los problemas comunes encontrados con la aplicación de fitosteroides esterificados son: un tiempo de conservación acortado, lo que conduce a la necesidad de instalaciones de almacenamiento refrigeradas. Además, las operaciones de procesamiento químicas aumentan seriamente los costes de producción y alteran la composición y/o la estructura química con respecto a la composición y la estructura naturales halladas en la fuente vegetal original.

45 Las soluciones técnicas que se basan en la modificación fisicoquímica de los esteroides incluyen: i) disolución de los esteroides, aunque sólo a niveles de un pequeño porcentaje, en aceites adecuados, ii) generación de suspensiones microcristalinas que garanticen una gran superficie disponible entre los cristales de esteroles y la matriz alimenticia circundante, y iii) creación de una emulsión basada en aceite o agua mediante la aplicación de agentes emulsivos adecuados con o sin adición de inhibidores de la cristalización.

La eficacia fisiológica de los fitosteroides cristalinos es aún muy dudosa, y no es probable que estas preparaciones proporcionen una reducción del nivel de colesterol tan eficaz como, por ejemplo, una emulsión apropiadamente formulada, o ésteres de fitostanol o fitosterol en un adecuado entorno basado en aceite.

50 Las soluciones técnicas basadas en emulsiones tienden a generar problemas de tiempo de conservación aún más serios que los ésteres de esteroles o estanol. Además, las preparaciones de esteroles basadas en emulsiones tienden inherentemente a ser termodinámicamente inestables, es decir, son emulsiones regulares (no microemulsiones) y, como tales, dependen de la adición de agentes estabilizantes adecuados para una estabilidad de larga duración.

55 Las matrices alimenticias de elección incluyen productos lácteos tales como leche y yogures, zumos y bebidas de zumo, pastas grasas para untar o aceites para cocinar, y pan. El enriquecimiento de la mayoría de los mencionados productos alimenticios con fitosteroides implica la dilución de los fitosteroides hasta una concentración relativamente

baja, normalmente bien por debajo del 10%, en los productos alimenticios con tiempo de conservación limitado.

En resumen, todos los desarrollos de preparaciones biodisponibles o fisiológicamente activas de fitosteroles tienen en común que es necesario que se genere una gran superficie disponible en el intestino con objeto de que tenga lugar un transporte molecular eficaz a los sitios activos y se faciliten las actividades lipasa y esterasa.

- 5 Debido a la relativamente grande dosis recomendada de 1 a 3 gramos al día, la mayoría de los alimentos enriquecidos en fitosteroles tienen dosis en el intervalo de 20 a 40 gramos de pasta para untar o de 100 a 200 ml de bebida. Por lo tanto, las soluciones técnicas del campo previo son inadecuadas para preparar productos finales secos y, con respecto a los fitosteroles, muy concentrados y fisiológicamente muy activos, tales como tabletas o polvos, a causa de los problemas de estabilidad a largo plazo, en algunos casos la baja actividad fisiológica de la preparación de esteroides, o la naturaleza fisicoquímica de la preparación de esteroides, por ejemplo, cuando el producto está en forma líquida.

- 15 El desarrollo de preparaciones eficaces de fitosteroles para producir vehículos compactos y concentrados, tales como tabletas o cápsulas, a semejanza de las populares preparaciones de vitaminas y minerales, generaría grandes beneficios para el productor así como para el consumidor del producto de fitosteroles. La preparación de fitosteroles tendría que ser eficazmente preparada con objeto de mantener una forma muy biodisponible de la preparación de fitosteroles incluso después de la formulación final y la fabricación de las tabletas, sin pérdida de actividad. En relativamente pocas patentes se describen composiciones y métodos para la preparación de tabletas o píldoras enriquecidas en fitosteroles.

- 20 En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2006/0024352 se describe la fabricación de suplementos dietéticos enriquecidos con fitosteroles en forma de tabletas, cápsulas o suspensión. Se menciona el uso de polvos micronizados o no micronizados de esteroides en combinación con excipientes comunes para tabletas, pero no se describe la preparación particular de los fitosteroles para potenciar la actividad fisiológica.

- 25 En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2006/0234948 se describen composiciones de fitosterol que contienen lignanos para la producción de tabletas que contienen entre 50 y 400 mg de fitosteroles. Los fitosteroles así como los demás ingredientes sólo se describen como finamente dispersados.

En la Solicitud de Patente de EE.UU. nº 2006/0251790 se describen fitosteroles recristalizados en triglicéridos para aplicaciones de tabletas o píldoras.

- 30 En la Solicitud Internacional WO/9956729 se describe una composición que contiene un componente reductor del nivel de colesterol; un alimento que contiene dicha composición; y un método para preparar la composición. En dicho método, el componente reductor del nivel de colesterol se funde o disuelve en una fase orgánica bajo temperatura elevada, y la masa fundida o la disolución obtenidas, antes de que cristalice o se asocie de otros modos, se distribuye en una matriz de modo que el componente reductor del nivel de colesterol esté estabilizado principalmente en forma monomolecular o de baja asociación o de "racimo". El producto obtenido es una masa sólida, de tipo caucho o muy viscosa.

- 35 En la Solicitud Internacional WO/9956729 se describe una composición que comprende una mezcla de un fitosterol y un agente tensioactivo como el allí especificado. También se describe el uso de la composición como un producto farmacéutico o en un producto alimenticio.

- 40 Se han empleado disoluciones de estanol- lecitina en cloroformo para producir micropartículas a partir de una mezcla de fitostanoles y lecitina por medio de secado por pulverización, seguido de granulación con polivinilpirrolidona y otros excipientes. Las tabletas obtenidas a partir de esta composición y este método de preparación particulares presentan una eficacia estadísticamente significativa en cuanto a reducir el nivel de colesterol; sin embargo, el método presentado parece difícil de aplicar a escala industrial [15].

- 45 Con estos antecedentes es evidente que, con respecto a la reducción del nivel de colesterol mediante el uso de fitosterol, existe aún la necesidad de una formulación que permita suministrar una dosis diaria requerida de un fitosterol que tenga una biodisponibilidad potenciada, sea como una formulación farmacéutica o sea como un producto alimenticio. Un objeto de la presente invención es proporcionar dicha formulación.

- 50 La presente invención se basa en el hallazgo de que hay medios para preparar fácil y eficazmente partículas con altas concentraciones de fitosteroles, que presenten una eficacia fisiológica considerablemente aumentada en cuanto a reducir el nivel de colesterol. El proceso de la invención implica un número de operaciones y proporciona un método al aplicar adecuada y únicamente ingredientes de calidad "alimento comestible" o los correspondientes ingredientes farmacéuticamente aceptables.

Sumario de la invención

De acuerdo con un primer aspecto, la invención proporciona un método para preparar micropartículas porosas que contienen fitosterol, al

- preparar una masa fundida homogénea de una composición que comprende

5 (i) un componente de fitosterol, y

(ii) un componente parcialmente soluble en agua, seleccionado de entre al menos uno de un ácido graso C10 a C26, un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26, una sal metálica de un ácido graso C10 a C26, una sal metálica de un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26, un agente tensioactivo y/o un polisacárido;

- dejar que la masa fundida se solidifique hasta un material sólido amorfo;

10 - procesar el material sólido amorfo hasta un polvo fino; y

- poner el polvo en contacto con una fase acuosa bajo condiciones de agitación.

De acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona una composición adecuada para preparar una micropartícula porosa que contiene fitosterol al someterla al método de la invención, que comprende

(i) un componente de fitosterol, y

15 (ii) un componente parcialmente soluble en agua, seleccionado de entre al menos uno de un ácido graso C10 a C26, un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26, una sal metálica de un ácido graso C10 a C26, una sal metálica de un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26, un agente tensioactivo y/o un polisacárido;

para preparar una micropartícula porosa que contiene fitosterol.

20 De acuerdo con otro aspecto, la invención proporciona un material sólido amorfo obtenido al preparar una masa fundida homogénea de la composición de la invención y dejar que la masa fundida se solidifique, siendo dicha masa fundida útil para preparar una micropartícula porosa que contiene fitosterol.

De acuerdo con un aspecto más, la invención proporciona una micropartícula porosa que contiene fitosterol.

De acuerdo con un aspecto más, la invención proporciona un granulado obtenible al granular las micropartículas porosas de la invención.

25 De acuerdo con aún otro aspecto, la invención proporciona el uso de las micropartículas porosas o el granulado de la invención para preparar una composición farmacéutica para reducir el nivel del colesterol sanguíneo.

De acuerdo con aún otro aspecto, la invención proporciona el uso de las micropartículas porosas o el granulado de la invención para preparar un producto alimenticio enriquecido con fitosterol.

30 De acuerdo con aún otro aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica para reducir el nivel del colesterol sanguíneo, preparada mediante el uso de las micropartículas porosas o el granulado de la invención.

De acuerdo con aún otro aspecto, la invención proporciona un producto alimenticio que contiene fitosterol, preparado mediante el uso de las micropartículas porosas o el granulado de la invención.

Aún otros aspectos y realizaciones resultarán evidentes a partir de la descripción siguiente y las reivindicaciones adjuntas.

35 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una imagen de micropartículas de la invención, tomada con un microscopio electrónico de barrido (SEM; del inglés, scanning electron microscope) con un aumento de $1,11 \cdot 10^3 \times$; y

La Figura 2 es una imagen de micropartículas de la invención, tomada con un SEM con un aumento de 678X.

Descripción detallada de la invención

40 Los esteroides cristalinos tienen en común que intensas interacciones de van der Waals así como enlaces de hidrógeno estabilizan la estructura del cristal. En agua o en disoluciones acuosas, el efecto hidrófobo también contribuye a minimizar eficazmente el área disponible hacia los alrededores. Esta es la causa principal que hay detrás de la actividad biológica comparativamente baja de los esteroides cristalinos.

El acusado orden cristalino puede ser alterado por mezclamiento con ciertos agentes, tales como ácidos grasos o sales metálicas de ácidos grasos, agentes tensioactivos o monoglicéridos. El presente inventor ha hallado que se puede generar una estructura amorfa que permita muy ventajosamente otro tratamiento para obtener un producto que contenga fitosteroles que tengan una biodisponibilidad potenciada.

5 De esta manera, el presente inventor ha hallado que se puede generar un material no cristalino amorfo al procesar una composición que comprende una combinación de un componente de fitosterol y un componente parcialmente soluble en agua, como se define más adelante en esta memoria, seleccionado de entre agentes tensioactivos, ácidos grasos y derivados de ácidos grasos, material amorfo que puede ser adicionalmente tratado para obtener un producto que contenga fitosteroles que tengan una biodisponibilidad potenciada.

10 Típicamente, la solubilidad de las moléculas hidrófobas o anfipáticas depende de la temperatura, la salinidad, el pH y, por supuesto, la presencia de otros componentes capaces de aumentar la solubilidad mediante, por ejemplo, la formación de micelas. La solubilidad puede ser definida como la diferencia estándar de energía libre en la transferencia de una masa acuosa diluida a un líquido neto a 25 °C. Por ejemplo, la solubilidad del ácido esteárico puro es aproximadamente 0,3 mg por litro de agua en estas condiciones concretas. Por otro lado, la adición de, por ejemplo, carbonato potásico a una fase acuosa que contiene ácido esteárico produce una solubilidad mucho mayor a causa de la formación de estearato potásico soluble en agua. Por lo tanto, la solubilidad del componente parcialmente soluble en agua de la invención puede ser ajustada esencialmente por medio de la temperatura y la adición de componentes que promueven la solubilidad.

20 De acuerdo con un aspecto, la invención proporciona una composición adecuada para preparar una micropartícula porosa que contiene fitosterol. Dicha composición comprende, además del componente de fitosterol, un componente parcialmente soluble en agua.

La composición de acuerdo con la invención es procesada del modo descrito más adelante en esta memoria, para generar una combinación molecular en forma de masa homogénea que sólo consiste en una fase amorfa.

25 El componente de fitosterol comprende esencialmente sitosterol, sitostanol, campesterol, campestanol y/o estigmasterol, aunque la composición exacta del componente de fitosterol depende, por ejemplo, de la fuente vegetal; en el componente de fitosterol también pueden estar presentes otros fitosteroles tales como brassicasterol, estigmasterol y clionasterol. En general, el componente de fitosterol será una mezcla de dos o más fitosteroles que pueden estar presentes en forma libre o en la forma de éster presente en la naturaleza. Las fuentes baratas de esteroides vegetales son, por ejemplo, aceites vegetales, lodos residuales de aceites vegetales, productos de destilación de aceites vegetales, y otras fuentes de aceites vegetales tales como los talloils.

30 El componente parcialmente soluble en agua de la invención es seleccionado de entre agentes tensioactivos, ácidos grasos, derivados de ácidos grasos o sales metálicas de los ácidos grasos o de los derivados de ácidos grasos, o una mezcla de cualesquiera de estos.

35 El ácido graso de la invención es adecuadamente no ramificado y saturado o monoinsaturado, en particular saturado, y tiene preferiblemente una cadena carbonada de entre 10 y 26 átomos de carbono, o de 12 a 24 carbonos, por ejemplo, de 14 a 22 átomos de carbono, o de 16 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, de 16 a 18 átomos de carbono. Por ejemplo, puede ser seleccionado de entre los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), araquídico (C20:0), behénico (C21:0) y erúxico (C22:0).

40 El derivado de ácido graso de acuerdo con la presente invención es preferiblemente un monoglicérido o diglicérido de un ácido graso no ramificado y saturado o monoinsaturado, por ejemplo, un ácido graso como el definido anteriormente en esta memoria. Preferiblemente, es un monoglicérido o diglicérido de un ácido graso seleccionado de entre ácidos grasos que tienen una cadena carbonada de entre 10 y 26 átomos de carbono, o de 12 a 24 carbonos, por ejemplo, de 12 a 22 átomos de carbono, o de 12 a 20 átomos de carbono, por ejemplo, de 12 a 16 átomos de carbono, en particular de 12 a 14 átomos de carbono. Por ejemplo, puede ser un monoglicérido o diglicérido de un ácido graso seleccionado de entre los ácidos láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), araquídico (C20:0), behénico (C21:0) y erúxico (C22:0). Preferiblemente, el derivado de ácido graso es un monoglicérido.

45 La sal metálica del ácido graso o del derivado de ácido graso es adecuadamente una sal farmacéuticamente aceptable y/o de calidad alimentaria, por ejemplo, una sal de un metal tal como un metal alcalino o un metal alcalinotérreo, por ejemplo, Li, Na, K, Mg o Ca, aunque también se pueden utilizar otros metales tales como Zn, Al, Fe, etc. Preferiblemente, la sal metálica es una sal con un catión monovalente, por ejemplo, Na⁺ o K⁺, o con un catión divalente, por ejemplo, Mg²⁺ o Ca²⁺. Por ejemplo, en una realización adecuada, la sal metálica es una sal con un catión monovalente, por ejemplo, Na⁺.

55 En una realización, el componente parcialmente soluble en agua comprende al menos un ácido graso y al menos un monoglicérido y/o un diglicérido (es decir, un monoacilglicerol y/o un diacilglicerol), o una sal metálica de cualquiera

de estos, como se definió anteriormente en esta memoria. Por ejemplo, el componente parcialmente soluble en agua puede comprender al menos un ácido graso y al menos un monoglicérido y/o una sal metálica de cualquiera de estos.

5 En el caso de que el componente parcialmente soluble en agua comprenda tanto un monoglicérido como un diglicérido, el componente de ácido graso del monoglicérido y del diglicérido es preferiblemente seleccionado del mismo grupo.

El agente tensioactivo de la invención es adecuadamente un compuesto no iónico, aniónico o iónico-dipolar ("zwitteriónico"), por ejemplo, un compuesto que tiene una cadena hidrocarbonada de entre 8 y 20 carbonos. Adecuadamente, el agente tensioactivo es farmacéuticamente aceptable y/o de calidad alimentaria.

10 Son ejemplos de agentes tensioactivos no iónicos los monoacilgliceroles y los ésteres de sacarosa con ácidos grasos.

15 Son ejemplos de agentes tensioactivos aniónicos e iónico-dipolares, por ejemplo, la lecitina, es decir, compuestos del grupo de las lecitinas, por ejemplo, sustancias grasas que se encuentran en tejidos animales y vegetales y en la yema de huevo, pero también en la soja, la semilla de algodón, el maíz, el germen de trigo, la avena, la cebada, el girasol, la semilla de colza, variedades de colza, la linaza, el cacahuete y la nuez de palma, compuestos generalmente de ácido fosfórico, colina, ácidos grasos, glicerol, glicolípidos, triglicéridos y fosfolípidos (por ejemplo, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol), en particular fosfatidilcolina. La lecitina de cualquier fuente comercialmente asequible es considerada útil de acuerdo con la presente invención; por ejemplo, la lecitina puede ser lecitina de yema de huevo o lecitina de origen vegetal, por ejemplo, lecitina de aceite de soja, comercialmente asequibles.

20 Los fosfolípidos que se pueden emplear de acuerdo con la invención pueden ser, por ejemplo, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, N-acilfosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, difosfatidilglicerol y ácido fosfatídico.

25 Otros ejemplos de agentes tensioactivos incluyen sulfosuccinato de dialquilo y sodio, polioxietilen-glicerol, éter estearílico de polioxietileno, copolímero de propoxilo-etoxilo, éster de alcohol graso y polioxietileno, ésteres de ácido graso y polioxietilen-sorbitán, aceite de ricino hidrogenado y etoxilado y aceite de ricino hidrogenado y butoxilado, y se debería saber que la identidad exacta del agente tensioactivo no es pertinente para la invención y que la persona con experiencia normal en la técnica podrá hallar muchos otros ejemplos de agentes tensioactivos adecuados para uso en la invención.

30 La composición de la invención comprende adecuadamente de 60 a 95% en peso del componente de fitosterol, por ejemplo, de 65 a 80% en peso del componente de fitosterol, y de 5 a 40% en peso del componente parcialmente soluble en agua, por ejemplo, de 35% en peso a 20% en peso del componente parcialmente soluble en agua, por ejemplo, de 30% en peso a 25% en peso del componente parcialmente soluble en agua.

35 La relación ponderal del componente de fitosterol al componente parcialmente soluble en agua en la composición de la invención es preferiblemente de 1,5:1 a 19:1, más preferiblemente de 1,5:1 a 5:1, por ejemplo, de 2:1 a 4:1 o de 2:1 a 3:1.

En una realización, la composición comprende de 1 a 5% en peso de un monoglicérido de ácido graso como el anteriormente definido en esta memoria.

40 En una realización, la composición comprende de 5 a 35% en peso de un ácido graso como el definido anteriormente en esta memoria.

En una realización, la composición comprende de 0,001 a 2% en peso de un agente tensioactivo como el anteriormente definido en esta memoria.

45 En una realización, el componente parcialmente soluble en agua comprende ácido graso y monoglicérido en una relación ponderal que es preferiblemente de 30:1 a 1:1, más preferiblemente de 20:1 a 2:1, por ejemplo, de 15:1 a 5:1, por ejemplo, de 14:1 a 6:1.

En una realización particular, la composición de la invención comprende un componente de fitosterol (i) y un componente parcialmente soluble en agua (ii), en donde los dos componentes están presentes en una relación ponderal de (i) a (ii) de 60:40 a 80:20, por ejemplo, de 65:35 a 75:25, por ejemplo, aproximadamente 70:30.

50 En una realización, al menos un ácido graso está presente en forma de una sal metálica como la anteriormente definida en esta memoria.

En una realización, al menos un monoglicérido de ácido graso está presente en forma de una sal metálica como la

anteriormente definida en esta memoria.

En una realización, la composición comprende de 0,001 a 0,5% en peso de una sal metálica de ácido graso y/o de monoglicérido de ácido graso, como se definió anteriormente en esta memoria, en particular de una sal metálica de ácido graso.

- 5 La composición de la presente invención, como se definió anteriormente en esta memoria, cuando es tratada mediante el método de la invención, proporcionará una micropartícula porosa que contiene fitosterol de biodisponibilidad potenciada.

De esta manera, de acuerdo con un aspecto, la invención proporciona un método para preparar micropartículas porosas que contienen fitosterol, al

- 10 - preparar una masa fundida homogénea de una composición que comprende un componente de fitosterol y un componente parcialmente soluble en agua;
- enfriar la masa fundida para obtener un material sólido amorfo;
 - procesar el material hasta un polvo fino; y
 - poner el polvo en contacto con una fase acuosa bajo condiciones de agitación.

- 15 La masa fundida homogénea se prepara calentando la composición a una temperatura y durante un periodo de tiempo suficientes para que se fundan todos los componentes de la composición de la invención. En general, los componentes se mezclan entre sí antes del calentamiento, y el calentamiento y la fusión se llevan a cabo con agitación con objeto de obtener una masa fundida homogénea. Sin embargo, se debería saber que también se pueden fundir separadamente los componentes y se pueden mezclar entre sí sólo después de la fusión.

- 20 Luego se hace que la masa fundida homogénea solidifique para obtener un material sólido amorfo, sea mediante un enfriamiento rápido, por ejemplo, usando nitrógeno líquido, o sea mediante un enfriamiento más lento, adecuadamente bajo condiciones de agitación. El material sólido amorfo formado puede ser llevado directamente a la operación siguiente o puede ser almacenado para un uso posterior. Adecuadamente, el material puede ser almacenado en un frigorífico pero, en cualquier caso, debería ser preferiblemente almacenado a una temperatura por debajo de la temperatura de fusión de cualquiera de los componentes del material sólido, por ejemplo, a temperatura ambiental.

- En la operación siguiente del método de la invención, el material sólido amorfo es procesado hasta un polvo fino. Esto puede ser llevado a cabo mediante molienda, trituración, ralladura o cualquier otro método adecuado para pulverizar el material. El tamaño de las partículas del polvo resultante es adecuadamente de 10 a 1000 μm , preferiblemente de 20 a 200 μm . El polvo puede ser llevado directamente a la operación siguiente o puede ser almacenado para un uso posterior.
- 30

- En la operación siguiente del método de la invención, el polvo es mezclado con una fase acuosa y es mantenido bajo condiciones de agitación durante un periodo de tiempo que permite que una porción del componente parcialmente soluble en agua del polvo se disuelva en el agua. Dicho periodo de tiempo depende principalmente del volumen de la fase acuosa, el tamaño de las partículas, la velocidad y la eficacia de la agitación, y la temperatura. Sin embargo, se requiere típicamente un periodo de tiempo del orden de 5 a 60 minutos, por ejemplo, de 10 a 30 minutos, aunque se debería saber que también se pueden utilizar tiempos más largos si se considera apropiado.
- 35

- Típicamente, se pueden usar velocidades de agitación de 100 a 30.000 rpm, por ejemplo, de 200 a 20.000 rpm o de 1000 a 10.000 rpm, dependiendo de la disposición y la geometría exactas de la agitación, la temperatura de la fase acuosa volumétrica, y la concentración y composición de los componentes solubles en agua añadidos. La relación ponderal de la fase acuosa al polvo es típicamente de entre 10:1 y 1:10, por ejemplo, de 5:1 a 1:5.
- 40

La temperatura de la fase acuosa es adecuadamente de 15 °C a 95 °C, por ejemplo, de 15 °C a 70 °C, por ejemplo, de 20 a 30 °C, por ejemplo, aproximadamente la temperatura ambiental.

- La fase acuosa que se va a mezclar con el polvo puede ser agua sin ningún componente adicional, o una disolución acuosa de diversas sustancias que facilitan la preparación de las micropartículas porosas de la invención.
- 45

- Por ejemplo, la fase acuosa puede contener al menos una sal metálica, por ejemplo, una sal de metal alcalino o alcalinotérreo, por ejemplo, un carbonato, hidrogenocarbonato o hidróxido, tal como carbonato magnésico, cálcico o sódico o el correspondiente hidrogenocarbonato o hidróxido. De este modo, en una realización, la fase acuosa contiene dicha sal metálica en una concentración de 0,005 a 2% en peso, por ejemplo, de 0,01 a 1% en peso, de la fase acuosa. Estas sales metálicas facilitan la disolución del componente parcialmente soluble en agua.
- 50

- 5 Opcionalmente, en la fase acuosa pueden estar presentes componentes parcialmente solubles en agua adicionales, tales como agentes tensioactivos, por ejemplo, cualesquiera de los anteriormente mencionados en esta memoria, para aumentar la eficacia del tratamiento. Adecuadamente, el agente tensioactivo puede estar presente en la fase acuosa en una concentración de 0,001 a 5%, por ejemplo, de 0,005 a 4%, o de 0,01 a 2%, en peso de la fase acuosa. En una realización, la fase acuosa contiene lecitina en una concentración de 0,01 a 2% en peso de la fase acuosa. Los componentes parcialmente solubles en agua adicionales son considerados agentes estabilizantes de la suspensión.
- 10 Además, la fase acuosa puede contener un(os) componente(s) que ayude(n) a estabilizar el estado poroso de las micropartículas de fitosterol. Dicho componente estabilizante puede ser, por ejemplo, pectina, almidón, almidón modificado, carragenano, agar, goma guar o goma arábiga, o mezclas de los mismos. En una realización, la fase acuosa comprende de 0,005 a 5% en peso, por ejemplo, de 0,01 a 3% en peso, de dicho componente estabilizante.
- Las micropartículas porosas pueden ser separadas de la fase acuosa por medio de filtración, centrifugación, evaporación de agua o cualquier forma conocida de técnica de separación.
- 15 Las micropartículas pueden ser secadas, por ejemplo, bajo vacío, para obtener un producto en polvo con excelentes propiedades con respecto a la actividad reductora del nivel fisiológico de colesterol y la capacidad sensoria.
- Como un ejemplo, en una realización, el componente de fitosterol y el componente parcialmente soluble en agua son mezclados y fundidos por calentamiento para obtener una disolución homogénea. La disolución es enfriada hasta que solidifica y es transferida a, y molida en, un molino. A continuación, el polvo resultante es transferido a una fase acuosa y es mantenido bajo condiciones de agitación durante un periodo adecuado de tiempo. Las micropartículas de fitosterol son luego separadas de la fase acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío.
- 20 Típicamente, una preparación de fitosterol micronizada de la técnica previa puede presentar una superficie específica de aproximadamente 50 m²/g de fitosterol. Se estima que, mediante el método de la presente invención, son obtenibles micropartículas que tienen una superficie específica de 100 a 500 m²/g de fitosterol. Sin pretender ningún respaldo teórico, se considera que el aumento de superficie específica observado se debe en particular a la presencia, en la composición, del componente parcialmente soluble en agua, el cual ayuda a reducir la tensión superficial hacia la fase acuosa y se disuelve además parcialmente en ella, lo que proporciona partículas con superficie rugosa así como poros en las micropartículas (véanse las Figuras 1 y 2).
- 25 Durante el tratamiento en la fase acuosa, la disolución del componente parcialmente soluble en agua cambia la composición de las partículas favoreciendo la retención de material menos soluble en agua en la fase de partículas sólidas. Por lo tanto, el tratamiento en agua genera una composición secundaria, diferente de la composición original, por la disolución de componentes de las partículas en la fase acuosa. El cambio de composición depende de parámetros en el equilibrio, tales como la composición de partida, el tamaño de las partículas, el volumen de la fase acuosa y la temperatura, así como de factores cinéticos tales como la velocidad y la eficacia de la agitación y el tiempo de tratamiento. Además, debido a factores tales como la retención del filtro y la incorporación aumentada de agua a las partículas, la comparación gravimétrica directa antes y después del tratamiento en agua casi nunca proporciona información exacta sobre la composición de la composición secundaria, es decir, la composición obtenida.
- 30 La micropartícula porosa de la invención tiene típicamente un tamaño de 10 a 100 µm, por ejemplo, de 10 a 50 µm, tal como de 15 a 40 µm, aunque también se pueden obtener partículas más grandes o más pequeñas.
- 40 Las partículas pueden ser granuladas, mediante métodos de granulación convencionales como los conocidos por la persona con experiencia normal en la técnica, para obtener un granulado con un tamaño de, por ejemplo, 100 a 1000 µm, por ejemplo, de 100 a 500 µm.
- Las micropartículas porosas de la invención pueden ser empleadas en la producción de tabletas, píldoras o cápsulas o ser añadidas a productos alimenticios de diferentes modos, ya estén tal cual son o ya estén, después de una granulación, como un granulado.
- 45 Los ejemplos de productos alimenticios a los que se pueden incorporar las micropartículas porosas son productos lácteos (por ejemplo, leche, yogur, mantequilla, queso y pastas para untar), zumos y bebidas de zumo, bebidas basadas en soja o arroz, pan, tentempiés o dulces.
- 50 Por ejemplo, se puede añadir una cantidad de micropartículas correspondiente a una dosis diaria de 1-3 g de fitosteroles, por ejemplo, 2 g de fitosteroles, a 50-200 g de un producto alimenticio, por ejemplo, 80-150 g de un producto alimenticio, tal como 80-150 g de un producto líquido.
- Las micropartículas de la invención pueden ser incorporadas a un producto alimenticio mediante, por ejemplo, infusión, inyección, mezclamiento, amasadura, combinación, inmersión, pulverización, aplicación superficial, etc.,

dependiendo, por ejemplo, del producto alimenticio particular que va a ser enriquecido con fitosterol.

En relación con el uso como un aditivo alimentario, se advierte que, como otro efecto ventajoso del método de la presente invención, las micropartículas de la invención están esencialmente exentas de todo sabor desagradable. En consecuencia, las micropartículas de la presente invención, cuando se utilizan como un aditivo alimentario, no contribuirán sustancialmente al sabor ni el aroma del producto alimenticio. En consecuencia, las composiciones de la presente invención pueden ser utilizadas en productos alimenticios sin que se vean comprometidos la textura, el sabor y el aroma de los productos alimenticios.

Las formulaciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser, por ejemplo, píldoras, tabletas, tabletas masticables, tabletas revestidas, cápsulas de cubiertas blanda y dura, polvos o granulados, por ejemplo, en bolsitas, etc., incluyendo preparaciones de liberación ininterrumpida.

La formulación puede ser administrada a un sujeto que se va a tratar como una unidad físicamente discreta, en una sola dosis o en dosis múltiples, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de fitosterol, opcionalmente en asociación con un excipiente y/o un vehículo adecuados.

La cantidad de fitosterol que se va a administrar es aquella que produce el efecto terapéutico deseado tras la administración de una o más unidades farmacéuticas. La dosis dependerá, por ejemplo, de la historia clínica del sujeto tratado, la edad, la salud y el peso del sujeto, etc. y es adecuadamente determinada por el médico responsable. En general, la dosis diaria puede variar de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 3 g de fitosterol, administrados en una o varias dosis diarias, por ejemplo, 1-6 dosis diarias o 1-3 dosis diarias. Como un ejemplo, se puede administrar una dosis diaria de 1,5 g de fitosterol en unidades de dosificación, por ejemplo, tabletas masticables, que contengan 500 mg de fitosterol cada una.

La concentración de fitosterol en la formulación farmacéutica puede ser muy alta a causa de las propiedades ventajosas de la micropartícula porosa de la invención. Por ejemplo, el fitosterol puede estar presente en una relación ponderal de hasta 95% en una formulación farmacéutica de la invención, o de hasta 80%, o de hasta 70%. Como un ejemplo, una tableta masticable preparada mediante el uso de las micropartículas porosas de la invención puede contener 500 mg de fitosteroles para un peso total de tableta de 1,4 g o puede contener 700 mg de fitosteroles para un peso total de tableta de 1 g.

La formulación farmacéutica de la invención puede comprender excipientes farmacéuticamente aceptables convencionales, tales como agentes humectantes, lubricantes, agentes colorantes, agentes saboreadores y conservantes, y/o vehículos, como es bien sabido por aquellos que tienen experiencia en la técnica.

Adecuadamente, el vehículo farmacéuticamente aceptable es químicamente inerte con respecto a los demás componentes de la formulación y no produce efectos secundarios perjudiciales ni toxicidad bajo las condiciones de uso. En "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", redactado por A. R. Gennaro, Lippincott, Williams & Wilkins, última edición, se encuentran formulaciones farmacéuticas. Son algunos ejemplos de las sustancias que pueden actuar como vehículos: azúcares tales como xilitol, lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; goma tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; ácido esteárico; estearato de magnesio; sulfato de calcio; aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de oliva y aceite de maíz, así como otras sustancias compatibles atóxicas empleadas en la preparación de formulaciones.

Las cápsulas farmacéuticas pueden contener las micropartículas de fitosterol en gránulos de forma granulada, que se pueden mezclar con cargas tales como lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco y estearato de magnesio, y opcionalmente estabilizantes.

La invención es ilustrada por los ejemplos siguientes pero no se limita a ellos.

Ejemplos

Ejemplo 1

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 26 g de ácido esteárico y 4 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 95 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua a temperatura ambiental y se agita suavemente la mezcla a 100 rpm con una paleta agitadora. Después de 30 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. Producción: 98,7 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 30 µm.

Ejemplo 2

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 26 g de ácido esteárico y 4 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 95 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino coloidal. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua que contiene 2% de lecitina (lecitina de yema de huevo, obtenida de Engelhardt & Co AB, Suecia) a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 20.000 rpm con un aparato Turrax. Después de 10 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. Producción: 96,3 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 15 µm.

Ejemplo 3

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 26 g de ácido esteárico y 4 g de estearato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 94 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino coloidal. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua que contiene 0,5% de carbonato disódico a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 20.000 rpm con un aparato Turrax. Después de 10 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. Producción: 98 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 15 µm.

Ejemplo 4

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 28 g de ácido esteárico y 2 g de laurato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 99 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino coloidal. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua que contiene 0,5% de pectina a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 20.000 rpm con un aparato Turrax. Después de 10 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. Producción: 99,6 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 15 µm.

Ejemplo 5

Se mezclan 75 g de fitosteroles, 23,5 g de ácido esteárico, 0,5 g de estearato sódico y 1 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 105 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de una disolución acuosa de 0,1% de pectina a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 100 rpm con una batidora doméstica de tipo paleta. Después de 30 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. Producción: 98,3 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 15 µm.

Ejemplo 6

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 27 g de ácido palmítico y 3 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 90 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,3 l de una disolución acuosa de 0,1% de pectina a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 2000 rpm con un aparato Turrax. Después de 30 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas a 30 °C. Producción: 96,3 g de micropartículas de fitosterol con un tamaño medio de 25 µm.

Ejemplo 7

Se mezclan 70 g de fitosteroles, 26 g de ácido esteárico y 4 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 95 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino coloidal. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 20.000 rpm con un aparato Turrax. Después de 10 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío.

Se mezclan 50 g del producto en polvo resultante con 30 g de xilitol, 10 g de almidón de maíz pregelatinizado, 4 g de ácido ascórbico, 0,5 g de aspartamo y 0,8 g de mentol. La mezcla es directamente comprimida en forma de tabletas masticables con un peso total de 1,4 g, que contienen 500 mg de fitosteroles, con excelentes resultados en cuanto a friabilidad, estabilidad y capacidad sensoria.

Ejemplo 8

5 Se mezclan 70 g de fitosteroles, 26 g de ácido esteárico y 4 g de miristato de monoglicerilo y se funden mediante calentamiento para obtener una disolución homogénea con un punto de solidificación estimado de aproximadamente 95 °C. La disolución es enfriada y es transferida a, y molida en, un molino coloidal. A continuación, se transfiere el polvo resultante a 0,5 l de agua que contiene 2% de lecitina a temperatura ambiental y se agita la mezcla a 20.000 rpm con un aparato Turrax. Después de 10 minutos de agitación, las micropartículas de fitosterol son separadas de la disolución acuosa por medio de filtración y son secadas bajo vacío. El producto en polvo es granulado desde un tamaño medio de partícula de 15 µm hasta 150 µm.

10 Se mezclan 50 g del producto en polvo granulado resultante con 5 g de celulosa microcristalina, 10 g de almidón de maíz pregelatinizado, 4 g de croscarmelosa sódica y 2 g de estearato de magnesio. La mezcla es directamente comprimida en forma de tableta con un peso total de 1 g, que contiene 700 mg de fitosteroles, con excelentes resultados en cuanto a friabilidad, estabilidad y capacidad sensoria.

Estudio clínico

15 Un estudio clínico preliminar realizado empleando tabletas obtenidas de acuerdo con los principios descritos en la invención ha confirmado que se pueden obtener micropartículas de fitosterol muy fisiológicamente activas y se pueden mantener en una forma final de tableta. Dos individuos sanos consumieron diariamente 3 tabletas masticables que contenían 500 mg de fitosteroles en forma de micropartículas amorfas y muy activas durante un periodo de un mes (dosis diaria total: 1,5 g de fitosterol). Las tabletas masticables se consumieron junto con las comidas.

20 Antes de comenzar el consumo, se tomaron dos muestras de sangre separadas por dos semanas para establecer los valores de línea de base de las concentraciones séricas de triglicéridos, HDL-colesterol y LDL-colesterol y también de las concentraciones de apolipoproteína A1 y apolipoproteína B. Luego se determinaron las concentraciones séricas de los componentes mencionados una vez a la semana durante un periodo de 30 días. Después de los 30 días, se tomaron dos muestras de sangre separadas por dos semanas con objeto de establecer los valores de los componentes sanguíneos después del consumo.

25 Los resultados proporcionaron una disminución estadísticamente significativa de la concentración de LDL-colesterol en un 21,5% (individualmente 29 y 14%) y una disminución del nivel de colesterol total en un 16,4% (individualmente 19,1 y 13,6%); no se midieron efectos estadísticamente significativos para las concentraciones de HDL-colesterol ni de triglicéridos. Los resultados son considerablemente mejores que los típicamente medidos en ensayos clínicos sobre alimentos enriquecidos en fitosterol. Resulta notable que se pudiera detectar una reducción del nivel de colesterol en la primera semana tras el inicio del consumo y que en la segunda semana las mediciones obtenidas permanecieran estables en un nivel menor que el de las mediciones de línea de base.

30 Tras la detención del consumo, las concentraciones de colesterol resurgieron hasta niveles comparables a los de las mediciones de línea de base en un periodo de dos semanas. Resulta interesante que se viera que los valores de apolipoproteína B disminuían, obteniéndose una disminución estadísticamente significativa del 8% al final del periodo de consumo de 4 semanas. Hoy en día se considera que la apolipoproteína B es un marcador más preciso del riesgo de contraer una enfermedad cardiovascular que el colesterol total o el LDL-colesterol. Se encuentra apolipoproteína B en una copia por cada partícula de LDL, VLDL o IDL (lipoproteínas de baja densidad, muy baja densidad y densidad intermedia), mientras que la apolipoproteína A1 se asocia con partículas de HDL. De este modo, se puede utilizar como marcador el número de partículas circulantes en vez de su contenido de colesterol. Sin embargo, en general se mide pocas veces por razones prácticas y, en consecuencia, las concentraciones de colesterol total y de LDL-colesterol siguen siendo los marcadores más comúnmente aplicados para el riesgo de desarrollar una enfermedad cardiovascular.

Referencias

- 45 1. Wood, D.; de Backer, G.; Faergeman, O.; Graham, I.; Mancina, G.; Pyörälä, K. *et al. European Heart Journal*, **1998**, *19*, 1434.
2. Grundy, S. M.; Cleeman, J. I.; Daniels, S. R.; Donato, K. A.; Eckel, R. H.; Franklin, B. A.; Gordon, D. J.; Krauss, R. M.; Savage, P. J.; Smith, S. C. Jr.; Spertus, J. A.; Costa, F. *Circulation*, **2005**, *112*, 2735.
3. Law, M. R.; Wald, N. J.; Thompson, S. G. *Br. Med. J.* **1994**, *308*, 367.
- 50 4. McQueen M. J.; Hawken S.; Wang X.; Ounpuu, S.; Sniderman, A.; Probstfield, J.; Steyn, K.; Sanderson, J. E.; Hasani, M.; Volkova, E.; Kazami, K.; Yusuf, S. *Lancet* **2008**, *372* (9634), 224-33.
5. Stryer, L. *Biochemistry*, 4ª edición, W. H. Freeman and Co.: New York **1995**, páginas 691-710.

6. Moss, G. P. *The nomenclature of steroids. Recommendations IUPAC* - The International Union of Pure and Applied Chemistry, *Eur. J. Biochem.* **1989**, 186, 429.
7. *Methods in Plant Biochemistry vol. 7*, redactado por Goad, J. L., Charlewood, B. V. y Banthorpe, D. V.; London: Academic Press **1991**, páginas 369-434.
- 5 8. Akihisa, T.; Kokke, W. C. M. C; Tamura, T. *Physiology and Biochemistry of sterols*, redactado por Patterson, G. W. y Nes W. D., American Oil Chemists Society **1991**, páginas 118-157.
9. Moreau, R. A.; Whitaker, B. D.; Hicks, K. B. *Progress Lipid Res.* **2002**, 41, 457.
10. Piironen, V.; Lindsay, D. G.; Miettinen, T. A.; Toivo, J.; Lampi, A.-L. *J. Sci. Food Agric.* **2000**, 80, 939.
11. Peterson, D. W. *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.* **1951**, 78, 143.
- 10 12. Pollak. O. J.; Kritchevsky, D. A. *Monographies in Atherosclerosis: Sitosterol*, Karger: Basel 1981.
13. Katan, M.; Grundy, S. M.; Jones, P.; Law, M.; Miettinen, T.; Paoletti, R. *Mayo Clin. Proc.* **2003**, 78, 965.
14. Mattson, F. M.; Grundy, S. M.; Crouse, J. R. *Am. J. Clin. Nutr.* **1982**, 35, 697.
15. McPherson, T. B.; Ostlund, R. E.; Goldberg, A. C.; Bateman, J. H.; Schimmoeller, L.; Spilburg, C. A. *J. Pharm. Pharmacol.* **2005**, 57, 889.

15

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar micropartículas porosas que contienen fitosterol, al
- preparar una masa fundida homogénea de una composición que comprende
 - (i) un componente de fitosterol, y
- 5 (ii) un componente seleccionado de entre al menos uno de un ácido graso C10 a C26, un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26, una sal metálica de un ácido graso C10 a C26 y/o un agente tensioactivo;
- dejar que la masa fundida se solidifique hasta un material sólido amorfo;
 - procesar el material sólido amorfo hasta un polvo fino;
 - agitar el polvo en una fase acuosa;
- 10 - opcionalmente, separar las micropartículas así obtenidas de la fase acuosa; y
- opcionalmente, secar las micropartículas separadas.
2. El método según la Reivindicación 1, en donde la composición comprende de 60 a 95% en peso de componente (i).
3. El método según la Reivindicación 1 o la Reivindicación 2, en donde la composición comprende de 5 a 40% en peso de componente (ii).
- 15 4. El método según la Reivindicación 3, en donde la composición comprende de 1 a 5% en peso de un monoglicérido de un ácido graso C10 a C26 y/o de 5 a 35% en peso de un ácido graso C10 a C26.
5. El método según cualquiera de las Reivindicaciones 3-4, en donde la composición comprende de 0,001 a 2% en peso de un agente tensioactivo.
- 20 6. El método según cualquiera de las Reivindicaciones 3-5, en donde la composición comprende de 0,001 a 0,5% en peso de una sal metálica de un ácido graso.
7. El método según cualquiera de las Reivindicaciones 1-6, en donde el agente tensioactivo es lecitina.
8. El método según cualquiera de las Reivindicaciones 1-7, en donde la fase acuosa contiene pectina, almidón, almidón modificado, carragenano, agar, goma guar o goma arábiga, o una mezcla de cualesquiera de los mismos y/o al menos un carbonato, hidrogenocarbonato o hidróxido metálico.
- 25 9. Micropartículas porosas que contienen fitosterol, obtenibles mediante un método según cualquiera de las Reivindicaciones 1-8.
10. Un granulado obtenible al granular las micropartículas porosas según la Reivindicación 9.
11. El uso de las micropartículas porosas según la Reivindicación 9 o el granulado según la Reivindicación 10 en la fabricación de una formulación farmacéutica para uso en la reducción del nivel de colesterol sanguíneo en un mamífero.
- 30 12. Una formulación farmacéutica para uso en la reducción del nivel de colesterol sanguíneo en un mamífero, preparada mediante el uso de las micropartículas porosas según la Reivindicación 9 o el granulado según la Reivindicación 10.
- 35 13. La formulación farmacéutica según la Reivindicación 12, que es una tableta, una píldora o una cápsula.
14. El uso de las micropartículas porosas según la Reivindicación 9 o el granulado según la Reivindicación 10 en la fabricación de un producto alimenticio enriquecido en fitosterol.
15. Un producto alimenticio enriquecido en fitosterol, preparado mediante el uso de las micropartículas porosas según la Reivindicación 9 o el granulado según la Reivindicación 10.

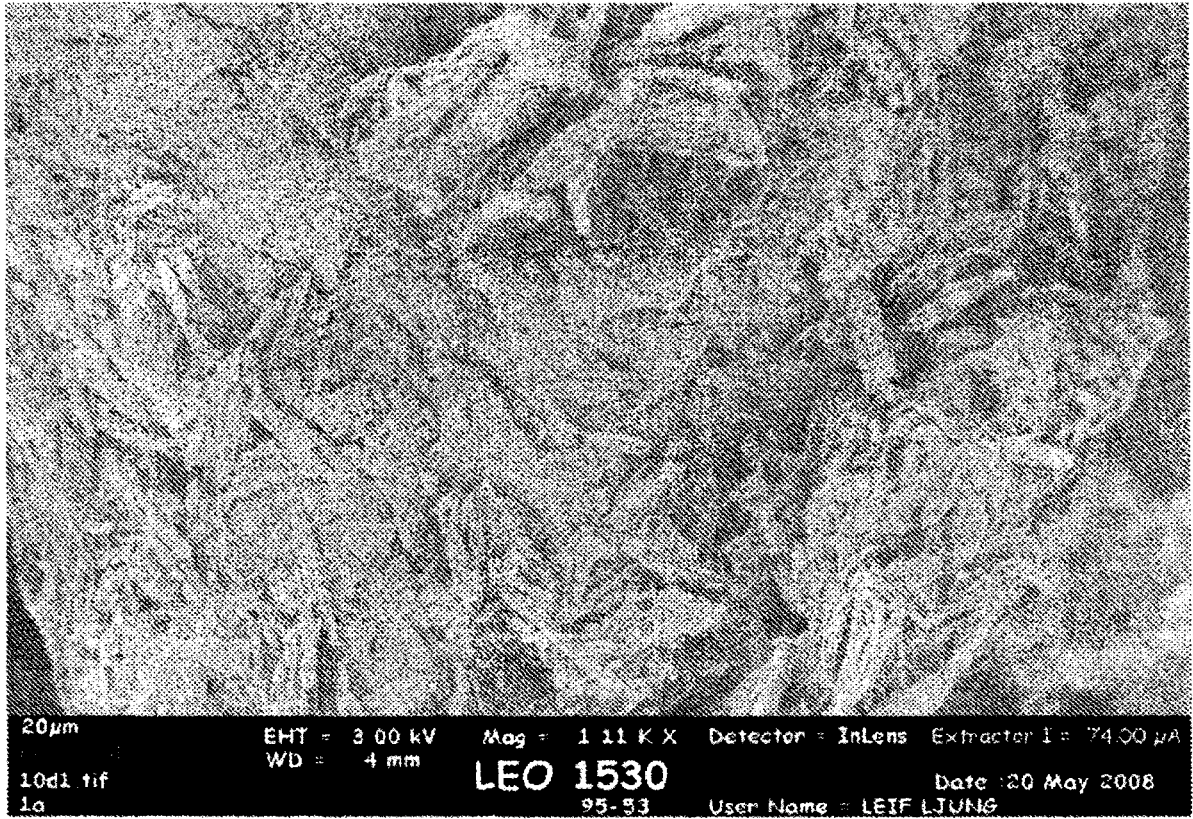


Fig. 1

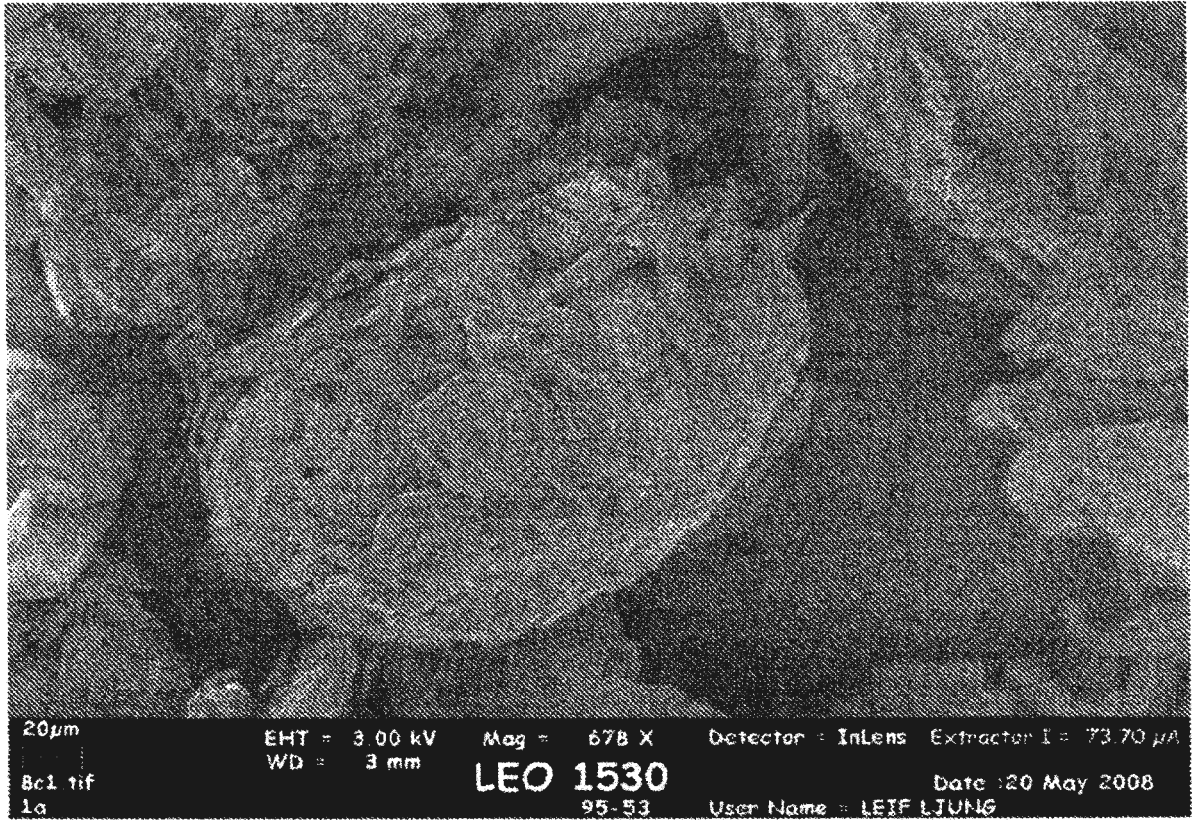


Fig. 2