

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 576 578**

51 Int. Cl.:

A61K 31/20 (2006.01)

A61K 31/202 (2006.01)

A61P 3/06 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.08.2006 E 06776665 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.03.2016 EP 1912638**

54 Título: **Composición de ácidos grasos n-3 que presentan una concentración elevada de EPA y/o DHA y que contiene ácidos grasos n-6**

30 Prioridad:

10.08.2005 IT MI20051560

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

08.07.2016

73 Titular/es:

**PRO APARTS - INVESTIMENTOS E
CONSULTORIA LDA (100.0%)**

**Avenida do Infante, 50
9004-521, Funchal, Madeira, PT**

72 Inventor/es:

BRUZZESE, TIBERIO

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 576 578 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

Composición de ácidos grasos n-3 que presentan una concentración elevada de EPA y/o DHA y que contiene ácidos grasos n-6.

5 La presente invención se refiere a una composición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que contiene por lo menos 80% en peso de ácidos de la serie n-3, representados por ácido eicosapentenoico (EPA, n-3 C20:5, todo-cis) y/o ácido docosahexenoico (DHA, n-3 C22:6, todo-cis), y por lo menos 3% en peso de ácidos de la serie n-6, representados por el ácido n-6 C20:4 (todo-cis) y por el ácido n-6 C22:5 (todo-cis). La composición se caracteriza además muy preferentemente por que presenta un contenido de otros ácidos n-3 de C20, C21 y C22, diferentes de EPA y DHA, menor que 3% y por otras especificaciones preferidas, para los componentes n-6 y n-3, como se especifica en la presente memoria a continuación.

15 Todos los ácidos mencionados anteriormente pueden estar presentes en la composición en forma de ácidos libres, de sales con bases aceptables para su utilización dietética y farmacéutica, de ésteres de alquilo de C1-C3, preferentemente los ésteres etílicos. La composición descrita es útil para tratamientos diabéticos y farmacéuticos reconocidos como sensibles a la acción de EPA y/o DHA, así como a la acción de los otros componentes, como se especifican asimismo en la presente memoria a continuación.

20 En la bibliografía se dan a conocer con frecuencia creciente los efectos beneficiosos de ácidos n-3, esencialmente de EPA y DHA.

25 La patente IT 1 235 879, mencionada y modificada subsiguientemente por la patente US nº 5.656.667, reivindica el tratamiento o la profilaxis de múltiples factores de riesgo para perturbaciones cardiovasculares, con reducción de hipertensión, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, de la actividad del factor VII de coagulación y de la agregabilidad de las plaquetas. La composición de ácidos grasos n-3 reivindicada incluye 80% en peso de dichas sustancias, representadas por por lo menos 75% en peso de EPA y DHA, y por lo menos 3% en peso de otros ácidos n-3 de C20, C21 y C22.

30 La patente EP-B-0 409 903 describe un procedimiento para preparar mezclas con concentración elevada de EPA y DHA y/o sus ésteres, útiles para el tratamiento de hiperlipemia y patologías relacionadas, trombosis, infarto de miocardio, agregación plaquetaria, procesos de coagulación en la prevención de aterosclerosis, infarto cerebral, lesiones y oclusiones causadas por espasmos vasomotores, y otras varias patologías.

35 La patente US nº 5.760.081 describe el tratamiento mediante vía por infusión con una composición que contiene EPA, para prevenir la fibrilación ventricular inminente en sujetos bajo situaciones de infarto.

40 La solicitud de patente WO 00/48592 describe el uso de una mezcla de ésteres etílicos de EPA y DHA que presenta una concentración > 25% para prevenir la muerte, particularmente "muerte súbita", en pacientes que han sufrido episodios previos de infarto.

45 La solicitud de patente EP 1 310 249 reivindica el uso de EPA y/o DHA en la prevención primaria de patologías cardíacas de origen coronario (trombosis, infarto de miocardio) y en aquellas patologías causadas por trastornos de conducción del ritmo (arritmia, fibrilación), así como en las patologías de tipo mecánico, como descompensación e insuficiencia cardíaca, debidas a deficiencias de la bomba cardíaca.

50 La solicitud de patente EP 1 157 692 describe una composición de ácidos grasos que contiene por lo menos 80% en peso de EPA y DHA, en la que otros ácidos n-3 de C20, C21 y C22 constituyen menos de 3%, y reivindica su utilidad para la producción de un medicamento para el tratamiento de múltiples factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares y otras patologías sensibles a la acción de EPA y DHA.

55 En momentos siguientes, además de la eficacia en las patologías relacionadas con el corazón, se han logrado mayores pruebas de la actividad de EPA y DHA en enfermedades tumorales (RA Karamali *et al.*, J. Nat. Cancer Inst. 75, 457, 1984), artritis reumatoide, enfermedad de tejido conjuntivo e inflamación (RA Lewis e KF Austen, J. Clin. Invest. 73, 889, 1984), psoriasis, esclerosis múltiple, en las varias patologías del sistema nervioso central, como epilepsia y depresión, y las enfermedades degenerativas con enfermedad de Alzheimer, y otras varias.

60 Se debe apreciar que la acción de EPA y DHA en varias de tales patologías se presenta probablemente por medio de los mecanismos muy diferentes, al actuar como moléculas sin modificar, o tras la inclusión en el conjunto fosfolipídico, etc., pero en algunos casos también es posible que su actividad pueda estar mediada por los mismos metabolitos o diferentes que resultaron ser esenciales en el tratamiento de enfermedades ateroscleróticas y cardiovasculares.

65 Para este fin, de hecho, la solicitud de patente mencionada WO 00/48592 da a conocer, por ejemplo, que EPA, que es un precursor de prostaciclina PGI3 y de tromboxano TxA3, ejerce un efecto preventivo sobre la agregación plaquetaria y sobre la formación de trombo hemático, que se puede adscribir a la inhibición de ciclooxigenasa (efecto

similar al de la aspirina) y/o a la competición con ácido araquidónico por esta enzima, con reducción consiguiente en la síntesis de PGE₂ y TxA₂, que son agentes agregadores de plaquetas bien conocidos.

5 Además, DHA, que es el componente más importante de lípidos cerebrales y un componente de la célula plaquetaria, interviene indirectamente también en el incremento de la fluidez plaquetaria, desempeñando así un papel importante en la actividad antitrombótica.

10 Desafortunadamente, cualquiera que sea la patología bajo tratamiento y cualquiera que sea el mecanismo de acción específico para dicha patología, como resultado de las varias variables que condicionan la hemostasia sanguínea (factores de coagulación, número de plaquetas, prostanoides agregantes/disgregantes, etc.), puede ocurrir que un tratamiento farmacológico prolongado con ácidos n-3, y/o un tratamiento en dosis elevadas, acoplado con otros factores individuales, pueda conducir a una extensión del tiempo de hemorragia, incluso hasta claros episodios hemorrágicos.

15 Un primer estudio específico sobre la materia (J Dyerberg y HO Bang, Lancet 2, 433, 1979) ya dio a conocer un tiempo de hemorragia de 8,05 minutos en un grupo de esquimales (recuento de plaquetas: 171000/ml) que recibió una ingesta habitual de ácidos n-3 (aceite de pescado) en la dieta, en comparación con 4,76 minutos en un grupo de control de daneses (plaquetas: 232000/ml) poco alimentados con ácidos n-3.

20 Otros varios estudios (por ejemplo, BA Bradlow, Thrombosis and omega-3 fatty acids. Epidemiological and clinical aspects, en "Health effects of polyunsaturated fatty acids in seafoods", Nueva York, Academic Press, 1986, 111-133; SH Jr. Goodnight, The antithrombotic effects of fish oil, ibidem) han confirmado entonces que los ácidos n-3 de la dieta pueden conducir, además de a una menor agregación plaquetaria, también a una prolongación del tiempo de hemorragia. Este efecto se ha observado particularmente en pacientes diabéticos (RS Tirvis *et al.*, Clin. Chim. Acta 164, 315, 1987).

30 De cualquier modo es obvio que el riesgo de sangrado y hemorragia se puede tomar conscientemente en el paciente coronaropático-aterosclerótico en riesgo de trombosis o infarto, por cuanto se opone directamente a su patología específica, mientras que es inaceptable en otras enfermedades cardíacas, como cualquiera de las que impliquen perturbaciones del ritmo y conducción eléctrica (arritmia, fibrilación), o las de origen mecánico relacionadas con insuficiencia de la bomba cardíaca (descompensación cardíaca), en las que la disgregación plaquetaria no es la primera elección terapéutica.

35 Así, es bastante inaceptable el riesgo de tomar ácidos n-3, en concentración o dosis elevada, o durante tiempos prolongados, cuando el tratamiento terapéutico está dirigido a patologías no relacionadas con enfermedades cardíacas, y de todos modos en todos los casos en los que el paciente tiene tendencia particularmente a episodios hemorrágicos (situación pre- o postquirúrgica, úlcera gástrica o duodenal, cirrosis hepática, defectos de coagulación y recuento sanguíneo, situación postraumática, etc.). Se ha descubierto así, para afrontar este problema, que la adición de pequeñas cantidades de ácidos n-6 a una composición de EPA y/o DHA, y su administración repetida a los animales experimentales, es capaz de devolver a valores normales el tiempo de hemorragia provocada por un trauma inducido.

45 De forma más precisa, en un experimento típico (ver Ensayo 1 a continuación) se añadió una composición que contiene por lo menos 80% en peso de ésteres etílicos de EPA y DHA con por lo menos 3% en peso de ésteres etílicos de ácidos de la serie n-6, típicamente ácido n-6 C20:4 y n-6 C22:5, y se administró oralmente a ratones a la dosis de 100 mg/kg durante 14 días: se obtuvo así un incremento de solamente aproximadamente 40% del tiempo de hemorragia, tras un trauma inducido, en comparación con los animales tratados con la composición de partida parcialmente libre de componentes n-6, que mostraron a su vez un tiempo de hemorragia doble (incremento de alrededor de 100%) en comparación con los animales no tratados.

50 De forma similar, la administración de una composición que contiene 5% de los mismos ésteres de n-6 (u 8% de ésteres de n-6 totales) aumentó el tiempo de hemorragia en solamente aproximadamente 15% (aproximadamente 10%, respectivamente).

55 Ensayo 1

60 Se trataron por vía oral 5 grupos de 10 ratones macho cada uno, que pesan 25-33 g, durante 14 días con disolución salina (grupo 1, control), con 100 mg/kg/día de una composición de ésteres etílicos de EPA y DHA 85,2% (n-3 de C20, C21 y C22 2,5%; n-6 C20:4 y C22:5 1,2%), obtenida según el documento EP 1157692 (grupo 2, referencia), y con 100 mg/kg/día de 3 composiciones (E, C y D del Ejemplo 2, respectivamente), obtenidas según el presente procedimiento (grupos 3, 4 y 5, tratados). Los animales se sometieron entonces a inhalación de isoflurano para inducir anestesia general.

65 Usando una cuchilla adecuada, cortamos entonces exactamente 0,5 cm de la punta distal de la cola, e inmediatamente muy poco después se insertó la cola tratada en un tubo que contiene una disolución salina amortiguada con un amortiguador de fosfato y precalentada y mantenida a 37°C. En este momento se inició un

cronómetro y, manteniendo la cola suavemente próxima a su base, se dejó salir sangre venosa al tubo, observando cuándo se detuvo la hemorragia, para detener el cronómetro en el mismo momento y registrar el tiempo preciso de la hemorragia.

- 5 Una vez que la hemorragia se detuvo durante 10-15 segundos, el animal se devolvió a su jaula, dejando que la anestesia revertisiera gradualmente. Raramente la hemorragia puede reanudarse, lo que de todos modos no se incluye en ningún caso en el tiempo de hemorragia.

Resultados: tiempo de hemorragia (segundos)

10	Grupo 1:	56 (51-62)
	Grupo 2:	123 (115-132) (#)
	Grupo 3:	80 (72-85) (#) (# #)
	Grupo 4:	66 (56-70) (# #)
	Grupo 5:	64 (58-70) (# #)

Prueba de la t de Student: (#) $P < 0,05$ frente a Grupo 1; (# #) $P < 0,05$ frente a Grupo 2.

- 15 Conclusión: la administración de una composición de EPA y DHA (grupo 2) prolonga de una manera estadísticamente significativa el tiempo de hemorragia, que por el contrario se reduce gradualmente en presencia de cantidades crecientes de componentes poliinsaturados n-6.

20 Para definir mejor la composición en objeto, se especifica que el contenido de EPA y/o DHA es por lo menos 80% en peso, preferentemente por lo menos 85%, y por lo menos 90% en el orden. También se preferirá un contenido mínimo de por lo menos 40% en peso de EPA y de por lo menos 34% de DHA, mientras que sus relaciones estarán comprendidas generalmente entre 2:1 y 1:2, preferentemente entre 1,5:1 y 0,9:1.

25 En todos los casos, EPA y/o DHA pueden estar presentes en forma de ácidos libres, o de sales con bases aceptables para uso dietético y farmacéutico, o de ésteres alquílicos de C1-C3.

Las bases orgánicas típicamente aceptables serán colina y etanolamina, lisina y arginina; las bases inorgánicas típicas serán hidróxido de sodio y de potasio, y otras. Entre los ésteres alquílicos, el éster etílico es muy preferido.

30 Se especifica además que los ácidos de la serie n-6, esencialmente representados por el ácido n-6 C20:4 y por el ácido n-6 C22:5, presentes también en la forma anteriormente definida de ácidos, sales o ésteres, tendrán un contenido de por lo menos 3% en peso, preferentemente por lo menos 5% en peso, o por lo menos 5,5-8% en peso referido al contenido total de los ácidos de la serie n-6. La relación entre n-6 C20:4 y n-6 C22:5 estará comprendida generalmente entre 10:1 y 1:10, preferentemente entre 3:1 y 1:3, y principalmente de aproximadamente 1,1. El contenido de ácido n-6 C22:5 constituirá por lo menos 1,2% en peso, preferentemente por lo menos 2% en peso.

35 La solicitud de patente mencionada EP 1 157 692, a la vez que reivindica una composición concentrada de EPA y DHA, describe cuidadosamente además que los ácidos n-3 de C20, C21 y C22 de cadena larga, distintos de EPA y DHA (siempre presentes en las composiciones de EPA y DHA, por cuanto ya están presentes en sí mismos en la materia prima de partida de producción, es decir, en el aceite de pescado), nunca se han aislado individualmente ni ensayado farmacológicamente, y por lo tanto se deben de considerar para todos los fines como impurezas verdaderas y subproductos indeseados de EPA y DHA. Por esta razón, y para limitar o evitar respuestas farmacoterapéuticas anormales, dicha solicitud de patente se centró, en oposición total a lo que se reivindica en la patente IT 1 235 879, el limitar su contenido a menos de 3%.

45 Se coincide en el contexto de la presente invención con esta consideración, y por lo tanto se especifica, en relación con la composición de la presente invención, que se caracterizará además por un contenido de ácidos n-3 de C20, C21 y C22 - diferentes de EPA y DHA - preferentemente menor que 3% en peso, particularmente menor que 1,5% en peso. Además, aún preferentemente, también los ácidos n-3 C21:5, y/o n-3 C20:4 y/o n-3 C22:5 serán individualmente menores que 1%, mientras que la relación entre n-3 C20:4 y n-3 C22:5 estará comprendida generalmente entre 10:1 y 1:10, preferentemente entre 3:1 y 1:3. Incluso, dichos ácidos estarán presentes como ácidos libres, sales o ésteres alquílicos de C1-C3, como se define anteriormente.

La composición de la invención así definida se puede obtener sustancialmente por medio de dos procedimientos diferentes.

55 Según el primer procedimiento, que no resulta preferido, los productos intermedios particulares se obtienen según procedimientos descritos en la bibliografía, como por ejemplo patente US nº 5.130.061, documentos IT 1 235 879, JP 02/25447, WO 89/11521, IT 1 205 043, EP 1 157 692, y otros, usando aceites de origen marino como materiales de partida (aceites de pescado, etc.) o incluso, si se prefiere o es necesario, aceites vegetales (aceites de semillas, etc.), aceites de algas, etc.: estos materiales intermedios están constituidos por una composición de concentración elevada de EPA y/o DHA y de una concentración baja de otros ácidos n-3 de C20, C21 y C22, y por otra

- composición enriquecida en ácidos n-6. Estas composiciones se purifican y modifican adicionalmente en su composición por medio de destilación molecular, a repetir más veces si es necesario, hasta la composición deseada. Los materiales adecuados también se pueden encontrar en el mercado (Sigma Co., USA), por lo menos aquellos en mayor pureza. A continuación seguirá el mezclamiento, en relaciones adecuadas, de las diversas composiciones, para alcanzar la composición deseada. En cualquier fase del procedimiento, cualquier componente se puede modificar según técnicas conocidas, para proporcionar el ácido libre, sal, o éster requerido. De todas maneras, este procedimiento no es preferido como un todo, por cuanto resulta que consume trabajo y es caro - requiriendo a menudo etapas de destilación cuidadosas y repetidas -.
- 5
- 10 Un segundo procedimiento, aunque todavía adopta dichos métodos de la bibliografía, como se menciona anteriormente, implica *viceversa* una selección más cuidadosa de los aceites de partida, lo que es esencial para los resultados del procedimiento, y por lo tanto puede conducir directamente a las composiciones deseadas sin requerir ningún mezclamiento de las composiciones intermedias.
- 15 Los aceites de partida - habitualmente aceites de pescado - se seleccionarán entonces meticulosamente para presentar el contenido máximo de EPA y/o DHA, habitualmente EPA de aproximadamente 12-18% y DHA de aproximadamente 8-12% (se pueden alcanzar concentraciones mucho mayores solamente cuando prevalece justamente uno de los dos componentes); para presentar el contenido mínimo de otros ácidos n-3 de C20, C21 y C22, preferentemente menor que 3% (posiblemente no mayor que 1,5%) como un todo, y menor que 1,0% (posiblemente no mayor que 0,5%) de forma individual; y finalmente para presentar un contenido relativamente elevado de ácidos n-6, particularmente n-6 C20:4 y n-6 C22:5, preferentemente mayor que 2,5% (y posiblemente no mayor que 6,0% en total), siendo n-6 C22:5 >1,2%.
- 20
- 25 La relación entre los componentes se respetará obviamente, de forma particular entre EPA y DHA (de 2:1 a 1:2), aunque habitualmente no habrá ninguna dificultad en la búsqueda de una relación aceptable entre los componentes n-3 y n-6 de C20:C22, considerando la relación amplia prevista (de 10:1 a 1:10). A la hora de definir las composiciones de las materias primas, debe considerarse que el contenido de los ácidos más insaturados se inclinará hacia un incremento en algunas fases del procedimiento (por ejemplo la concentración, ver a continuación) y se puede modular parcialmente en otras fases (por ejemplo destilación molecular).
- 30
- 35 No es posible proporcionar desde el comienzo indicaciones claras para una selección óptima del aceite de pescado de partida; se requiere por encima de todo una monitorización analítica continua y meticulosa, llevada a cabo posiblemente sobre grandes lotes de material para obtener composiciones medias constantes. Otro criterio de selección puede ser totalmente erróneo, como consecuencia de la variabilidad extrema debida a factores geográficos, estación de pesca, fuentes de alimentación (fitoplancton y especies depredadoras), ciclos migratorios y reproductivos, actividad de diversas enzimas (desaturasas y elongasas) que están presentes en las diferentes especies de peces, y a otros factores. Debido a esta variabilidad, la indicación de un aceite de pescado según su fuente es ciertamente inadecuada y puede reservar grandes sorpresas, mientras que el control analítico estricto resultará indispensable. Las indicaciones de procedimiento señalan como preferidos los aceites de pescado capturados en áreas ecuatoriales, o de pescado de agua dulce, así como de pescado de acuicultura en lugar de pescado salvaje, pero todo esto no puede dar ninguna seguridad, y la decisión de uso derivará solamente del control analítico.
- 40
- 45 Partiendo de los aceites seleccionados como se indica anteriormente, se procede entonces según dichos métodos de la bibliografía, incluyendo en cualquier caso las precauciones adecuadas para nuestro fin específico. El aceite de pescado se somete por lo tanto a un procedimiento hidrolítico, por ejemplo en presencia de hidróxido de potasio y en medio hidroalcohólico, manteniendo condiciones adecuadas para evitar cualquier posible degradación (atmósfera inerte, presencia de antioxidantes, calentamiento cuidadoso), para obtener las sales de ácidos grasos y, a partir de éstas, los ácidos correspondientes (y opcionalmente los ésteres). Alternativamente, los aceites de pescado se someten directamente a transesterificación (en lugar de a hidrólisis) en presencia de un alcohol, preferentemente etanol, y de un ácido o preferentemente de un catalizador básico. Se obtienen así los ésteres de ácidos grasos (y a partir de estos, opcionalmente, los ácidos y sales correspondientes).
- 50
- 55 La mezcla de ésteres de ácidos grasos (o de los propios ácidos) se somete entonces, por ejemplo, a reacción con urea en etanol o en metanol, obteniendo así un complejo insoluble con componentes saturados y menos insaturados, que se separa por filtración, recuperando entonces de la disolución una composición fuertemente enriquecida en componentes poliinsaturados como EPA y/o DHA. Si la composición no alcanza la concentración deseada (EPA y/o DHA > 80%), se puede someter a una nueva complejación con cantidades reducidas de urea.
- 60
- 65 La etapa final de la preparación puede implicar simplemente una fase de purificación, por ejemplo mediante un procedimiento cromatográfico o simplemente una percolación en sílice, si la composición - por medio de una selección óptima de la materia prima - ya se ajusta a las especificaciones requeridas: en este caso, el fin es solamente el de eliminar varios materiales extraños y productos de degradación que están presentes en la composición (oligómeros y polímeros, material insaponificable, plaguicidas, agentes contaminantes, metales pesados, disolventes clorados, etc.), o de devolver nuevamente a valores los parámetros tecnológicos habituales (índice de acidez, índice de peróxido, índice de yodo, etc.).

De otro modo, más frecuentemente y preferentemente, la composición se somete a destilación molecular (o procedimientos similares, por ejemplo extracción fraccionada con fluidos supercríticos), obteniendo así también - a través de la eliminación de diversas fracciones - una modificación significativa de la composición de la mezcla, que se adecuará así a las especificaciones previamente fijadas para los diversos componentes. Se ha descubierto que la temperatura de destilación, incluso a alto vacío, depende esencialmente del tamaño molecular, es decir, del número de átomos de carbono del ácido graso, por ejemplo menor para compuestos C18 y creciente en el orden para C20 y C22, y dentro de cualquier intervalo de temperatura, menor para los menos insaturados y mayor en el orden para los más insaturados. La fase de destilación se llevará a cabo entonces según la composición disponible y según las especificaciones requeridas del destilado.

El orden mencionado en la presente memoria de las etapas preparativas es el preferido, pero se puede modificar según la oportunidad y la necesidad. Igualmente en cualquier etapa, los ácidos, sales y ésteres se pueden transformar entre sí, según métodos conocidos. El número de tratamientos con urea, y la selección de las fracciones de destilado, se realizará según los resultados analíticos y las decisiones adecuadas tomadas según la técnica.

La composición reivindicada se puede usar para la fabricación de una preparación para uso dietético y/o farmacéutico. Esta última preparación se puede administrar tanto por vía parenteral como mucho más preferentemente por vía oral, pero se puede poner en práctica cualquier otra vía de administración, ya sea preferentemente aquellas que garanticen una absorción sistémica elevada, y las aplicaciones tópicas. En cualquier caso, la vía de administración preferida es muy preferentemente la vía oral, por medio de formulaciones farmacéuticas que se pueden obtener con técnicas y excipientes típicos de principios activos oleosos, como las composiciones en objeto, según las instrucciones descritas por ejemplo en Remington's Pharmaceutical Sciences Handbook, Hack Publ. Co., N.Y., USA. La formulación preferida es aquella en cápsulas blandas, preferentemente en cápsulas de gelatina blandas, pero también se pueden usar cápsulas duras a prueba de aceites, y comprimidos en excipientes sólidos, emulsiones, gránulos en excipientes dispersantes, gotas, jarabes, etc. Los ácidos grasos de la composición estarán presentes preferentemente en forma de ésteres etílicos.

En el uso oral, la dosis unitaria comprende generalmente 250-1500 mg de composición activa, preferentemente 500-1000 mg, y la dosis diaria es habitualmente 0,3-5,0 g o más, preferentemente 0,5-3,0 g.

Las diversas formulaciones farmacéuticas, también útiles para uso dietético y como integradores alimentarios, pueden contener o también deben de contener - además de la composición de la invención y otras sustancias o fármacos que tienen actividad complementaria y/o sinérgica - uno o más vehículos aceptables para uso humano, como se conoce en la técnica, como diluyentes, aglutinantes, estabilizantes, tensioactivos, lubricantes y similares. Es muy preferida la presencia de agentes antioxidantes como vitamina E (tocoferoles), butil-hidroxianisol, butil-hidroxitolueno, palmitato de ascorbilo y ácido ascórbico, y agentes similares. También es aceptable o se requiere la presencia de conservantes, materias colorantes, sabores, edulcorantes, etc.

Haciendo referencia al uso farmacéutico de la preparación que contiene la composición de la invención, se incluirán las patologías conocidas de los sistemas cardiovascular y cardiocirculatorio, y sus factores de riesgo (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aterosclerosis, etc.), incluyendo aquellas patologías de origen coronario (que conducen a infarto y a muerte súbita) y vascular en general (apoplejía, isquemia e infarto cerebral), las patologías provocadas por defectos de la conducción eléctrica (arritmia, tanto auricular como ventricular, fibrilación) y aquellas provocadas por causas mecánicas relacionadas con la bomba cardíaca (insuficiencia cardíaca y descompensación), etc., tanto para la prevención primaria como secundaria (antes de cardiopatía evidente, post-infarto).

También se incluirán las patologías relacionadas con otros órganos y tejidos, con metabolismo, etc., en cualquier manera sensibles a la acción de EPA, DHA y los otros constituyentes de la composición, y sus metabolitos, incluyendo todos los eicosanoides.

Las patologías sensibles se representan mediante enfermedades del sistema nervioso central (epilepsia, depresión, enfermedad bipolar, etc.), incluso de tipo degenerativo, así como las enfermedades autoinmunitarias, enfermedades tumorales, artritis, enfermedad del tejido conjuntivo, enfermedad de Crohn, psoriasis, y otras diversas enfermedades mostradas en la bibliografía, todo ello en analogía con el uso de composiciones similares.

Se dirigirá una indicación particular a todos aquellos pacientes que están afectados potencial o prácticamente con problemas de hemorragia, incluyendo las formas más suaves como epistaxis nasal, hasta aquellos con mayor riesgo, como hemorragias, hemorragias internas, etc.

Se incluyen los sujetos con úlcera activa, cirrosis hepática, enfermedad tumoral, etc., así como las víctimas de sucesos traumáticos, de cirugía, etc., y aquellos afectados por problemas de coagulación y agregación plaquetaria.

Los siguientes ejemplos se dirigen a ilustrar con mayor detalle la invención.

Ejemplo 1

Se usó un aceite de pescado, conjunto de diferentes lotes, que tiene un contenido de EPA y DHA relativamente elevado (alrededor de 26-27% en total), un contenido relativamente "elevado" de ácidos n-6 de C20-C22, y un contenido relativamente "bajo" de ácidos n-3 de C20, C21 y C22. Las siguientes fases de transesterificación con etanol, complejación fraccionada con urea, y destilación molecular, todas ellas llevadas a cabo en condiciones experimentales controladas, se describen en los siguientes Ejemplos.

En la siguiente Tabla 1 se da a conocer una composición ejemplar del aceite de partida, limitada a los constituyentes poliinsaturados de n-3 y n-6, C20, C21 y C22 de interés: todos los componentes saturados y monoinsaturados se eliminarán completamente en cualquier caso complejando con urea, mientras que también los ácidos poliinsaturados con menor grado de insaturación se reducirán fuertemente.

Durante la fase de destilación, también se reducirá sustancialmente o se eliminará la presencia de todos los ácidos residuales de bajo punto de ebullición hasta C18, con la única excepción más evidente de n-3 C18:4 y otros componentes presentes en concentraciones muy bajas, habitualmente < 0,2%.

En la misma tabla también se da a conocer, para los mismos ácidos, la composición de los ésteres etílicos obtenidos, que resultará ser para EPA y DHA >80% (86,7%), relación entre 2 y 0,5 (1,25), para n-6 C20:4 y C22:5 >3,0% (5,5%), para los otros n-3 de C20, C21 y C22 <3,0% (1,7%).

Tabla 1

Ácidos grasos	Composición en ácidos grasos del aceite de partida (%)	Composición de ésteres etílicos obtenidos (%)
n-6 C20:2	0,2	0,1
n-6 C20:3	0,1	0,1
n-6 C20:4	1,4	2,4
n-3 C20:4	0,5	0,4
n-3 C20:5 (EPA)	16,8	48,2
n-3 C21:5	0,4	0,6
n-6 C22:2	0,6	0,1
n-6 C22:4	0,4	0,6
n-6 C22:5	2,3	3,1
n-3 C22:5	0,5	0,7
n-3 C22:6 (DHA)	9,7	38,5
Suma de EPA + DHA	26,5	86,7
Relación EPA:DHA	1,73	1,25
Suma de n-6: C20:4+C22:5	3,7	5,5
Suma de n-6: total	5,3	7,2
Suma de otros n-3: C20, C21 y C22	1,4	1,7

Ejemplo 2

Se dan a conocer algunas composiciones ejemplares obtenidas según la invención.

Los procedimientos básicos se deducen de la bibliografía, por ejemplo la patente US nº 5.130.061, los documentos IT 1 235 879, JP 02/25447, WO 89/11521, EP 1 310 249, y otros, teniendo en cuenta las modificaciones e indicaciones de la presente descripción, del ejemplo 1, y de los siguientes ejemplos. Las composiciones pueden contener d,l-alfa-tocoferol (>0,03%) como antioxidante.

Tabla 2

Composiciones (%)	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H2	I3	J1	K1
EPA	46,3	55,4	46,2	41,5	49,8	37,9	51,2	45,8	45,5	81,7	
DHA	35,4	28,4	39,1	45,0	36,9	50,4	40,0	39,8	35,8		80,6
n-6 C20:4	2,5	3,0	3,0	2,6	2,5	1,7	0,8	0,4	1,8		
n-6 C22:5	4,3	3,2	2,8	5,5	1,2	3,6	3,5	3,0	4,2		
n-3 C20:4	0,6	0,8	0,4	0,1	0,5	0,9	0,3	0,9	0,2		
n-3 C21:5	0,9	0,8	0,6	0,5	0,7	0,8	0,5	0,6	0,9		
n-3 C22:5	1,4	0,9	0,9	0,7	0,6	0,9	0,7	0,1	0,8		
Suma de EPA+DHA	81,7	83,8	85,3	86,5	86,7	88,3	91,2	85,6	81,3		
Relación EPA:DHA	1,31	1,95	1,18	0,92	1,35	0,75	1,28	1,15	1,27		
Suma de n-6: C20:4+C22:5	6,8	6,2	5,8	8,1	3,7	5,3	4,3	3,4	6,0	8,1	8,9

Composiciones (%)	A1	B1	C1	D1	E1	F1	G1	H2	I3	J1	K1
Suma de n-6 total	9,3	9,5	7,1	8,8	3,9	6,5	5,5	6,2	9,7		
Suma de otros n-3: C20, C21 y C22	2,9	2,5	1,9	1,3	1,8	2,6	1,5	1,6	1,9	2,7	2,6

(1) Ésteres etílicos; (2) Ácidos libres; (3) Sales sódicas

Ejemplo 3

5

a) Transesterificación

Se ha utilizado un aceite de pescado de composición similar a la dada a conocer en el Ejemplo 1, caracterizada por un contenido de EPA y DHA (17,3% y 10,4%, respectivamente) y ácidos n-6 C20:4 y C22:5 (0,6% y 3,2%, respectivamente) relativamente elevado, y por un contenido de otros ácidos n-3 C20, C21 y C22 (1,5%, total) relativamente bajo.

10

Se trata 1,0 kg de aceite con 2 litros de etanol y 12,5 g de hidróxido de potasio, con agitación durante 2 horas en atmósfera de nitrógeno, para obtener una transformación completa de los glicéridos en ésteres etílicos.

15

La disolución obtenida se diluye con agua, se acidifica con ácido sulfúrico y se diluye con un volumen doble de hexano. Entonces se elimina la fase de agua-alcohol, mientras que la fase orgánica se lava cuidadosamente con agua, teniendo cuidado de no obtener emulsiones, se seca y se evapora hasta sequedad a vacío.

20

b) Complejación con urea

La mezcla de ésteres etílicos obtenidos según a) se trata con una disolución hirviendo de 2,5 kg de urea en 8 litros de metanol, después la mezcla se enfría hasta 0/+4°C y se deja reposar toda la noche, obteniendo un precipitado abundante constituido por el complejo de urea con los ésteres de ácidos saturados y menos insaturados. El precipitado se separa por filtración, y la disolución metanólica se destila a vacío hasta un residuo oleoso. El residuo se disuelve nuevamente con hexano, la disolución se lava con agua, se seca y se evapora hasta sequedad, obteniendo una mezcla concentrada de ésteres etílicos de ácidos poliinsaturados.

25

La mezcla se puede someter entonces a una nueva complejación con urea hasta composición constante.

30

c) Destilación molecular

La mezcla concentrada de ésteres etílicos de ácidos grasos poliinsaturados se somete a una destilación molecular de etapa doble, recogiendo la fracción principal a 94-98°C/10-3 mm Hg. La composición, similarmente a la obtenida en el Ejemplo 1), incluye en forma de ésteres metílicos: EPA 47,7% y DHA 38,1%, C20:4 n-6 0,8%, C22:5 n-6 3,1%, otros ácidos n-3 C20, C21 y C22 igual a 1,6%. Si es apropiado, la mezcla obtenida se somete a una nueva destilación (o purificación mediante otra vía), según la enseñanza de la presente descripción.

35

Ejemplo 4

40

Se da a conocer la composición y la preparación de cápsulas de gelatina blandas de 1 g

Composición	EPA y/o DHA (1)	d,l- α -tocoferol	Gelatina	Gelatina succinato	Glicerol	IO (2)	SEHB (3)	SPHB (4)
mg	1000	0,3		233	67		0,09	0,54
mg	1000	4 UI	246		118	3,54		

(1) Composiciones como se describen en los Ejemplos 1 y 2; (2) óxido de hierro; (3) etil p-hidroxibenzoato de sodio; (4) propil p-hidroxibenzoato de sodio.

45

Preparación: La composición de ácidos grasos según los Ejemplos 1 y 2 y los excipientes se pesan y se homogeneizan en un tanque con un agitador de alta velocidad. La mezcla se trata entonces con un molino coloidal y se desairea en un recipiente de acero inoxidable. Continúese entonces hasta la introducción en cápsulas de gelatina blandas adoptando métodos y equipos estándares.

50

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que contiene por lo menos 80% en peso de ácido icosapentaenoico (EPA, n-3 C20:5) y/o ácido docosahexaenoico (DHA, n-3 C22:6), y por lo menos 3% en peso que es la suma del ácido n-6 C20:4 y el ácido n-6 C22:5, en la que los ácidos pueden estar presentes en forma de ácidos libres, o sus sales con bases aceptables para su utilización dietética y farmacéutica, o mediante ésteres alquílicos de C1-C3.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, en la que otros ácidos n-3 C20, C21 y C22, diferentes de EPA y DHA, constituyen menos de 3% en peso, particularmente menos de 1,5% en peso.
- 15 3. Composiciones según las reivindicaciones 1 y 2, en las que el ácido n-3 C21:5 constituye menos de 1%.
4. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido n-3 C20:4 constituye menos de 1%.
- 20 5. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido n-3 C22:5 constituye menos de 1%.
- 25 6. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 85% en peso de EPA y/o DHA.
7. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 90% en peso de EPA y/o DHA.
- 30 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 5% en peso de n-6 C20:4 y n-6 C22:5.
9. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 5,5% en peso de ácidos de la serie n-6.
- 35 10. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 8% en peso de ácidos de la serie n-6.
- 40 11. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 40% en peso de EPA.
12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene por lo menos 34% en peso de DHA.
- 45 13. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido n-6 C22:5 constituye por lo menos 1,2%.
14. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido n-6 C22:5 constituye por lo menos 2%.
- 50 15. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la relación entre EPA y DHA está comprendida entre 2:1 y 1:2, preferentemente entre 1,5:1 y 0,9:1.
- 55 16. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la relación entre el ácido n-6 C20:4 y el ácido n-6 C22:5 está comprendida entre 10:1 y 1:10, preferentemente entre 3:1 y 1:3.
17. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la relación entre el ácido n-3 C20:4 y el ácido n-3 C22:5 está comprendida entre 10:1 y 1:10, preferentemente entre 3:1 y 1:3.
- 60 18. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que las sales con bases aceptables para su utilización dietética y farmacéutica se representan mediante sales con bases inorgánicas y orgánicas.
19. Composición según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que los ésteres alquílicos de C1-C3 están representados por ésteres etílicos.
- 65 20. Utilización de una composición según las reivindicaciones 1 a 19, para la producción de una preparación dietética o una preparación farmacéutica para el tratamiento y/o la profilaxis de sujetos afectados por factores de riesgo múltiples para las enfermedades cardiovasculares, por enfermedades cardiovasculares y cardiocirculatorias, y por otras patologías sensibles a la acción de EPA y/o DHA.

21. Utilización según la reivindicación 20, en la que los factores de riesgo múltiples para las enfermedades cardiovasculares se representan mediante hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipertensión e hiperactividad del factor VII de coagulación.
- 5 22. Utilización según la reivindicación 20, en la que las enfermedades cardiovasculares y cardiocirculatorias derivan de problemas coronarios y vasculares, como aterosclerosis y situaciones pre- y postinfarto, y como apoplejía, isquemia e infarto cerebral; de defectos de la conducción eléctrica y ritmo, como taquicardia, arritmia auricular y ventricular, fibrilación y muerte súbita; de defectos mecánicos de la bomba cardíaca, como insuficiencia cardíaca y descompensación.
- 10 23. Utilización según la reivindicación 20, en la que las patologías sensibles se representan mediante las enfermedades del sistema nervioso central, como epilepsia, depresión y formas bipolares, enfermedades nerviosas degenerativas, patologías autoinmunitarias, enfermedades tumorales, artritis y enfermedades del tejido conjuntivo, enfermedad de Crohn, psoriasis, y otras.
- 15 24. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 20 a 23, en la que los sujetos son afectados fácilmente por procesos hemorrágicos, como los afectados por úlcera activa, cirrosis hepática, enfermedades tumorales, así como las víctimas de episodios traumáticos y quirúrgicos, y los afectados por problemas de coagulación y agregación plaquetaria.
- 20 25. Preparación dietética o farmacéutica que comprende una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19.
- 25 26. Preparación dietética o farmacéutica según la reivindicación 25, constituida por cápsulas de gelatina blandas.
27. Preparación dietética o farmacéutica según la reivindicación 25 o 26, que comprende un vehículo y/o excipiente y/o diluyente farmacológicamente aceptable.