

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 630**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 9/20 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/202 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2014 E 14001940 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.01.2017 EP 2952180**

54 Título: **Formulaciones sólidas que contienen resveratrol y ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA)**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.06.2017

73 Titular/es:

**SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE
RIUNITE S.P.A. (100.0%)
Viale Shakespeare, 47
00144 Rome, IT**

72 Inventor/es:

**SANTANIELLO, MOSÉ y
GIANNINI, GIUSEPPE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 615 630 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

Formulaciones sólidas que contienen resveratrol y ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA)

Campo Técnico

5 La presente invención se refiere a composiciones sólidas que comprenden ácidos grasos poliinsaturados de omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol, o un extracto natural que contiene resveratrol, adsorbido en un sustrato inerte en donde la composición se mantiene estable durante 6 meses a temperatura ambiente.

En particular, la presente invención se refiere a las composiciones sólidas y estables mencionadas anteriormente, para uso en la prevención o tratamiento de enfermedades cardiovasculares debidas a trastornos del metabolismo de lípidos y al incremento de la agregación plaquetaria, daños debidos a radicales libres y/o enfermedades virales.

10 **Antecedentes de la invención**

15 Las enfermedades cardiovasculares relacionadas con el metabolismo anormal de lípidos son muy frecuentes en las ciudades industrializadas. En Italia, por ejemplo, de acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la Salud publicado en Abril del 2011, el número de muertes en Italia por enfermedades cardiovasculares alcanzó el 18,65% de la mortalidad global. Nuestro conocimiento de las relaciones entre colesterol y enfermedad coronaria deriva de los estudios epidemiológicos realizados en los últimos años. Las conclusiones alcanzadas en estos estudios indican que el desarrollo de aterosclerosis coronaria y enfermedad coronaria están estrechamente correlacionadas con el nivel de colesterol sérico (Breuer, H.W. M.; *European Cardiology*, 2005; 1-6).

20 Las plaquetas juegan un papel importante, pero a menudo poco reconocido en enfermedades cardiovasculares. Por ejemplo, la respuesta normal de las plaquetas puede ser alterada, ya sea por el aumento de estímulos pro-agregatorios o por las sustancias anti-agregatorias disminuidas para producir unas condiciones de aumento de la activación/agregación plaquetaria que ocurre en estados de enfermedad cardiovascular tanto crónica (p.ej., angina de pecho estable) como aguda (p.ej., infarto de miocardio agudo). Además, la hiperagregabilidad plaquetaria se asocia también con factores de riesgo de la enfermedad arterial coronaria (p.ej., fumar, hipertensión, e hipercolesterolemia). Finalmente, la utilidad de una serie creciente de terapias anti-plaquetarias en el control de los estados patológicos anteriores enfatiza además el papel fundamental que juegan las plaquetas en la patogénesis de las enfermedades cardiovasculares. Un artículo publicado recientemente proporciona una visión general de las plaquetas en el mantenimiento de la homeostasis, los procesos fisiopatológicos que contribuyen a la disfunción plaquetaria en enfermedades cardiovasculares y el papel asociado y los beneficios de las terapias antiplaquetarias (Kottke-Marchant K.: *Cleveland Clinic Journal of Medicine*; 2009 Apr; 76 (1): 1-7).

30 Se están acumulando evidencias de que la mayoría de las enfermedades degenerativas que afligen a la humanidad tienen su origen en reacciones nocivas de radicales libres. Estas enfermedades incluyen aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria de las articulaciones, asma, diabetes, demencia senil y enfermedad degenerativa de los ojos. El proceso de envejecimiento biológico debe tener también una base de radicales libres. La mayoría del daño de los radicales libres a las células implica radicales libres de oxígeno o, más generalmente, especies de oxígeno activo (AOS) las cuales incluyen especies no radicálicas tales como oxígeno singlete y peróxido de hidrógeno así como radicales libres. Las AOS pueden dañar el material genético, provocar la peroxidación lipídica en las membranas celulares, e inactivar las enzimas unidas a la membrana. La suplementación de antioxidantes de nuestra dieta es necesaria para asegurar una población anciana sana (Aust. N. Z. *J Ophthalmol*. 1995 Feb; 23(1):3-7).

40 Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) han demostrado un efecto beneficioso en la prevención de acontecimientos cardiovasculares (Aarsetoy H. y colaboradores; *Cardiology Research and Practice*, Volumen 2012: 1-16), posiblemente por medio de un mecanismo antiinflamatorio, antitrombótico y antiarrítmico (Sethi S. y colaboradores; *Blood* 2002;100:1340-6; Billman GE, y colaboradores; *Circulation* 3 1999;99:2452-7). El efecto hipolipídico fue el primero detectado, por lo que al principio estos fármacos se habían usado para el tratamiento de los trastornos dislipidémicos, mientras que los efectos antiinflamatorios, antitrombóticos, antiateroscleróticos y antiarrítmicos se encontraron después. El ensayo GISSI-Prevention (*Lancet* 1999 354: 447-55) fue el primer ensayo que demostró la eficacia y tolerabilidad de n-3 PUFAs en pacientes con infarto post-miocárdico. De acuerdo con las evidencias en la literatura, hoy en día n-3 PUFAs están indicados para la prevención primaria y secundaria de la cardiopatía isquémica y la muerte súbita cardíaca (SCD) (Mori TA, Beilin L J. Long-Chain omega-3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr. Opin. Lipidol*. 2001;12:11-7).

50 En *Nutrition and Dietary Supplements*, 2011 Septiembre 14; 93-100 se describe el papel de las series de ácidos grasos poliinsaturados n-3 en la prevención de las enfermedades cardiovasculares. Resveratrol (trans-3,4',5'-trihidroxiestilbeno) es una molécula de polifenol localizada en las pieles de las uvas negras. Se sabe que tienen efectos cardioprotectores, actuando como inhibidores de la agregación plaquetaria (Szmítko PE, y colaboradores; *Circulation* Enero 2005, 111 (2) p10-11; Das DK, y colaboradores; "Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine". *Mol. Interv.*, 2006, 6 (1): 36-47). También actúa como agente antioxidante y protector de la piel (Afaq, Farrukh y colaboradores; "Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging"; *Experimental Dermatology*, 2006, 15 (9): 678-84). El resveratrol se ha estudiado intensamente

recientemente, en relación con las propiedades beneficiosas conocidas del vino tinto, del cual es uno de los ingredientes fundamentales (*Life Sci.*, 71, 2145-52, 2002). Numerosos estudios han demostrado una actividad anticarcinogénica del resveratrol, cuyos mecanismos de acción se pueden subdividir como sigue: inhibición de la activación del factor de transcripción NF-kB, capaz de regular la expresión de diversos genes implicados en procesos inflamatorios y carcinogénicos (*Lancet*, 341, 1103-1104, 1993; *Science*, 275, 218-220, 1997; *Proc. Natl. Acad. Sc.*, 94, 14138-14143, 1997; *Life Science*, 61, 2103-2110, 1997; *Brit. J. Pharm.*, 126, 673-680, 1999; *J. Imm.*, 164, 6509-6519, 2000); inhibición de diversas proteínas, incluyendo proteína quinasa C (*Biochemistry.*, 38, 13244-13251, 1999), ribonucleótido reductasa (*FEBS Lett.*, 421, 277-279, 1998) y ciclo-oxigenasa-2 (COX-2) en células epiteliales de mamíferos (*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 889, 214-223, 1999; *Carcinogenesis.*, 21, 959-963, 2000); activación de las caspasas 2, 3, 6 y 9 (*FASEB J.*, 1613-1615, 2000) y modulación del gen p53, que es un supresor conocido de tumores (*Cancer Research*, 59, 5892-5895, 1999; *Clin. Biochem.*, 34, 415-420, 2001). En *Free Radic. Res.*, 33, 105-114, 2000 se describe la actividad antioxidante del resveratrol y su capacidad para contrarrestar los efectos dañinos producidos por diversas sustancias y/o condiciones que causan estrés oxidativo intracelular.

En el documento de Patente EP1567137B1 se describe el uso de resveratrol para el tratamiento de las infecciones por el virus de la gripe.

En el documento de Patente WO2009/034124 se describe una composición que comprende un núcleo que comprende un compuesto lábil de oxidación y una capa protectora de oxidación.

El documento de Patente US2010/247632 se refiere a la mejora de la biodisponibilidad de agentes beneficiosos poco solubles en agua.

El documento de Patente WO 2011161501 describe composiciones sólidas en forma de polvos o gránulos en donde el ingrediente activo es insoluble o poco soluble en agua y/o termolábil y/o tiene propiedades organolépticas desagradables. El método descrito es una dispersión en una matriz lipídica que contiene un triglicérido, un éster de polioxietileno sorbitán y palmitato de ascorbilo.

El documento de Patente WO 2011120530 describe composiciones portadoras inertes sólidas porosas que comprenden un dióxido de silicio poroso (dióxido de silicio) y un agente potenciador de la liberación que puede cargarse con aceites farmacéuticos, entre ellos el aceite de pescado. Un ejemplo de preparación de composiciones que comprenden n-3 PUFA en combinación con uno o más ingredientes activos se describe en el documento de Patente EP2517697. En particular, se describen suspensiones de microcápsulas que comprenden una o más estatinas en ésteres de alquilo del n-3 PUFA, en los que las estatinas se aíslan del contacto con el éster alquílico del n-3 PUFA por medio de una membrana polimérica que se puede disgregar fácilmente en el medio gastrointestinal.

La mayoría de los métodos conocidos en la técnica, útiles para la preparación de composiciones que contienen resveratrol y n-3 PUFA, incluyen procesos de microencapsulación o recubrimiento que son largos y costosos. Estos estudios se centran en encontrar un método de administración adecuado para el resveratrol en una dosis única dentro de una fase aceitosa.

En la técnica, no se conocen composiciones sólidas que comprendan n-3 PUFA y resveratrol, en las que n-3 PUFA sean estables a temperatura ambiente para un máximo de 6 meses.

Teniendo en cuenta las ventajas de tener formulaciones que contienen n-3 PUFA en forma sólida, para la preparación de formulaciones que podían combinar múltiples nutraceuticos que en la mayoría de los casos son extractos secos o insolubles en n-3 PUFA, se hace cada vez más notable la necesidad de encontrar un método para la preparación de composiciones en las que se impide la degradación de n-3 PUFA mediante un proceso simple, rápido y económicamente ventajoso.

Descripción de la invención

Se ha encontrado sorprendentemente ahora que cuando el n-3 PUFA se adsorbe en un sustrato inerte, la adición de una cantidad adecuada de resveratrol, o un extracto natural que contiene resveratrol, proporciona estabilidad a la formulación durante al menos 6 meses a temperatura ambiente.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es una composición sólida que comprende ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol adsorbido en un sustrato inerte seleccionado del grupo que consiste en gránulos ultraligeros finos de aluminometasilicato de magnesio o un portador de sílice, en donde la recuperación del n-3 PUFA es al menos el 96% después de 6 meses a 25°C a 60% RH; al menos el 95% después de 3 meses a 30°C a 60% RH; y al menos el 90% después de 3 meses a 40°C a 70% RH.

En una realización de la presente invención los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) o sus ésteres de alquilo, y mezclas de los mismos; en donde los ésteres de alquilo se seleccionan del grupo que consiste en ésteres etílico, metílico, y propílico. En una realización adicional de la presente invención los ácidos grasos poliinsaturados omega-3

(n-3 PUFA) son una mezcla de ácidos grasos que tienen un contenido en EPA y DHA comprendido entre 75% y 95% en peso, preferiblemente al menos el 85%, del peso total de ácidos grasos, y en donde el contenido total de n-3 PUFA es al menos del 90% en peso del peso total de ácidos grasos; y la relación entre el ácido eicosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico está comprendida entre 0,5 y 2;

- 5 En otra realización de la presente invención los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ésteres etílicos de EPA y DHA en una relación comprendida entre 0,9 y 1,5 y el contenido en éster etílico de EPA está comprendido entre 40 y 51% y el contenido en éster etílico de DHA está comprendido entre 34 y 45% en peso del peso total de ácidos grasos;

En otra realización de la presente invención el sustrato inerte se selecciona de Neusilin® US2 y SYLOID® XDP.

- 10 Un objetivo adicional de la presente invención es una composición sólida que comprende ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol adsorbido en un sustrato inerte seleccionado del grupo que consiste en gránulos ultraligeros finos de aluminometasilicato de magnesio o un portador de sílice, en donde la recuperación de omega-3 es al menos del 96% después de 6 meses a 25°C; al menos del 95% después de 3 meses a 30°C; o al menos del 90% después de 3 meses a 40°C., en forma de suplemento dietético o nutricional, o medicamento para administración oral.

En una realización adicional de la presente invención en la composición anteriormente mencionada los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) están en una cantidad comprendida entre 0,5 y 1,0 g, preferiblemente entre 0,8 y 0,9 g, más preferiblemente 0,9 g;

- 20 Un objetivo adicional de la presente invención es la composición anteriormente mencionada, en donde la relación entre los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol está comprendida entre 0,01 y 0,1, preferiblemente 0,02.

De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, la composición anteriormente mencionada, puede comprender además una o más vitaminas, minerales, coenzimas, antioxidantes y/o extractos de plantas.

- 25 De acuerdo con una realización adicional de la presente invención, la composición anteriormente mencionada, comprende además al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Un objetivo adicional de la presente invención es, la composición anteriormente mencionada, caracterizada porque está encapsulada por cápsulas de gelatina blanda, teniendo opcionalmente un recubrimiento entérico, para administración oral.

- 30 Un objetivo adicional de la presente invención son las composiciones anteriormente mencionadas, para uso en la prevención o tratamiento de enfermedades cardiovasculares debido a los trastornos del metabolismo lipídico y/o el aumento de la agregación plaquetaria; daños debido a los radicales libres seleccionados del grupo que consiste en aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria de las articulaciones, asma, diabetes, demencia senil y enfermedad degenerativa de los ojos; y/o enfermedades virales.

- 35 La composición farmacéutica adecuada para uso de acuerdo con la presente invención comprende generalmente al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un tensioactivo y/o un espesante y/o un aglutinante y/o un lubricante y/o un aromatizante y/o un colorante y/o un estabilizante, que pueden ser seleccionados fácilmente por un experto en la técnica.

- 40 Las composiciones de la invención, junto con los adyuvantes, vehículos, diluyentes o excipientes empleados convencionalmente pueden colocarse en la forma de composiciones sólidas farmacéuticas y dosificaciones unitarias de las mismas. Tales composiciones farmacéuticas se pueden emplear como sólidos, tales como tabletas o cápsulas rellenas, todas para uso oral. Las composiciones para administración oral pueden tomar también la forma de suspensiones o polvos a granel. Más comúnmente, sin embargo, las composiciones se presentan en una forma de dosis unitaria para facilitar la dosificación exacta.

- 45 El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéuticamente adecuado.

- 50 Materiales adicionales así como técnicas de procesamiento y similares se exponen en la Parte 5 de Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Edition, 2000, Merck Publishing Company, Easton, Pennsylvania, que se incorpora aquí por referencia.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención se pueden formular también como un suplemento alimenticio o un suplemento dietético, que constituyen un objetivo adicional de la invención.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención comprenden ingredientes activos que se conocen en la técnica y que ya se usan en la práctica clínica. Por lo tanto, son muy fáciles de adquirir, en la medida en que son productos que han estado en el mercado durante algún tiempo y son de un grado adecuado para administración humana o animal.

- 5 El resveratrol (3,5,4'-trihidroxi-trans-estilbeno) es un estilbenoide, un tipo de fenol natural, y una fitoalexina producida naturalmente por varias plantas cuando están bajo el ataque de patógenos como bacterias u hongos.

- 10 El término "ácidos grasos poliinsaturados omega-3" (aquí abreviados como "n-3 PUFA") se refiere a una familia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, normalmente de C₁₆ a C₂₄, en particular aquellos que tienen una cadena de C₂₀ a C₂₂. Todos ellos tienen en común un doble enlace carbono-carbono en la posición n-3, es decir, el tercer enlace desde el metilo del extremo del ácido graso.

Ejemplos de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 más comunes encontrados en la naturaleza se presentan en la siguiente tabla junto con sus nombres asignados.

Nombre común	Nombre del lípido	Nombre químico
Ácido rugánico	16:3 (n-3)	Ácido todos-cis-7,10,13-hexadecatrienoico
Ácido α-linolénico (ALA)	18:3 (n-3)	Ácido todos-cis-9,12,15-octadecatrienoico
Ácido estearidónico (STD)	18:4 (n-3)	Ácido todos-cis-6,9,12,15-octadecatetraenoico
Ácido eicosatrienoico (ETE)	20:3 (n-3)	Ácido todos-cis-11,14,17-eicosatrienoico
Ácido eicosatetraenoico (ETA)	20:4 (n-3)	Ácido todos-cis-8,11,14,17-eicosatetraenoico
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	20:5 (n-3)	Ácido todos-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico
Ácido docosapentaenoico (DPA), ácido clupanodónico	22:5 (n-3)	Ácido todos-cis-7,10,13,16,19-docosapentaenoico
Ácido docosahexaenoico (DHA)	22:6 (n-3)	Ácido todos-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico
Ácido tetracosapentaenoico	24:5 (n-3)	Ácido todos-cis-9,12,15,18,21-tetracosapentaenoico

- 15 Los más preferidos son el ácido todos-cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (EPA) y el ácido todos-cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico (DHA).

- 20 Preferiblemente el n-3 PUFA de acuerdo con la invención es una mezcla de ácidos grasos que tienen un alto contenido en EPA y DHA, por ejemplo con un contenido en EPA y DHA superior al 25% en peso, preferiblemente desde aproximadamente 30% hasta aproximadamente 100% en peso, en particular aproximadamente entre 75% y 95%, y más preferiblemente al menos 85% en peso en base al peso total del ácido graso. Preferiblemente el contenido total de n-3 PUFA de acuerdo con la invención es una mezcla de ácidos grasos que tienen al menos un 90% de n-3 PUFA en peso en base al peso total del ácido graso.

- 25 Los términos "PUFA" y "n-3 PUFA", como se usan aquí, pretenden abarcar sus correspondientes ésteres de alquilo de C₁-C₃, preferiblemente sus ésteres etílicos, y/o sus sales con bases farmacéuticamente aceptables tales como hidróxido de sodio, lisina, arginina o aminoalcoholes tales como colina. Las composiciones de la invención se administran oralmente, en particular en la forma de cápsulas de gelatina blanda. La dosis unitaria comprende generalmente de 100-1.000 mg de ácidos grasos poliinsaturados de las series omega-3, preferiblemente de 500-1.000 mg o 300-500 mg, estando la dosis total normalmente alrededor de 0,1-3,0 g por día, preferiblemente 0,3-2,0 g por día, lo más preferiblemente 1,0 g por día.

- 30 Fármacos específicos que contienen n-3 PUFA que cumplen las especificaciones anteriores, como ingredientes activos y que pueden usarse de acuerdo con la presente invención, están ya disponibles en el mercado.

Esta cantidad de producto se puede administrar en la forma de varias dosis divididas diariamente o preferiblemente como una dosis única, para alcanzar el nivel sanguíneo deseado. Por supuesto, el médico puede variar la cantidad de producto (o mezclar con otros agentes terapéuticos) que se va a administrar, de acuerdo con las condiciones del paciente, edad y peso.

- 35 Otros tipos de formulación para administración oral son también adecuados para los propósitos de la invención; por ejemplo, cápsulas o tabletas duras, en las que los ácidos grasos poliinsaturados se adsorben en soportes sólidos.

Las composiciones ilustradas en la Farmacopea Europea 2000 (EuPh. 2000), que contienen cantidades superiores o iguales al 90% en peso de los ésteres etílicos de ácidos grasos poliinsaturados del ácido graso poliinsaturado omega-3 (n-3 PUFA), del que una cantidad superior o igual al 80% en peso está representado por mezclas de ésteres etílicos de EPA y DHA son también adecuados para los propósitos de la presente invención.

5 La relación más preferida entre EPA y DHA es aproximadamente 0,6-1,1/1,3-1,8; en particular está comprendida entre 0,9 y 1,5.

Preferiblemente el contenido de EPA (como éster etílico) está comprendido entre 40 y 51% en peso y el contenido de DHA (como éster etílico) está comprendido entre 34 y 45% en peso del peso total de ácidos grasos.

10 Neusilin® U.S.-2 (Fórmula química $Al_2O_3 \cdot MgO \cdot 1,7SiO_2 \cdot xH_2O$, Número CAS 12511-31-08) es un gránulo ultraligero fino de aluminometasilicato de magnesio y se acepta como excipiente multifuncional que mejora la calidad de los productos farmacéuticos. Debido a su gran superficie y a su naturaleza porosa, adsorbe altas cargas de aceites o agua y se pueden compactar mecánicamente en tabletas de alta calidad.

15 El portador de sílice SYLOID® XDP es un material mesoporoso optimizado para transformar líquidos en sólidos que fluyen libremente, particularmente activos aceitosos y sistemas basados en lípidos. El equilibrio entre la capacidad de adsorción, densidad, y liberación puede incrementar la carga y deserción del API en las formulaciones líquidas-sólidas y simplificar la transformación de los sistemas de suministro de fármacos basados en lípidos y API en polvos que fluyen libremente para formas de dosificación sólida.

20 En otra realización de la presente invención, las composiciones tienen una forma unitaria, en la que los ingredientes activos se presentan en una única forma farmacéutica, particularmente adsorbida en un soporte inerte. Las composiciones de acuerdo con la presente invención contienen opcionalmente, junto con el ingrediente activo, al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Para demostrar sus ventajas sustanciales y efectos inesperados, la presente invención se lleva a cabo de acuerdo con los siguientes ejemplos, sin limitarla.

Descripción detallada de la invención

25 Ejemplos

Materiales y métodos:

Para el propósito de la presente invención se han usado los siguientes materiales:

- 30 • los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos poliinsaturados con un contenido en EPA y DHA superior al 85%, en una relación EPA/DHA comprendida entre 0,9 y 1,5, y es un producto proporcionado por Pronova, Noruega;
- el resveratrol es proporcionado por Royalmount Pharma, Montreal, Canada;
- el aluminometasilicato de magnesio también conocido bajo el nombre comercial de Neusilin® usado es proporcionado por Fuji Chemical Industry Co., Ltd, Japón;
- el α -tocoferol es proporcionado por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia;
- 35 • el Syloid XDP es proporcionado por Grace Performance Chemicals, Worms, Alemania;
- el Coenzima Q10 es proporcionado por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia;
- el palmitato de ascorbilo es proporcionado por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia;
- el ácido lipoico es proporcionado por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia;
- el ácido ascórbico es proporcionado por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia;
- 40 • el hidroxitirosol es proporcionado por Probeltebio Murcia, España;
- la epigalocatequina es proporcionada por Sigma-Aldrich s.r.l., Milan, Italia.

Análisis de estabilidad:

Las formulaciones se dividieron en tres grupos y se dejaron respectivamente durante 3 y 6 meses a 25°C a 60% RH (humedad relativa), durante 3 y 6 meses a 30°C a 60% RH o durante 3 y 6 meses a 40°C a 70% RH.

5 El análisis de HPLC fue el análisis realizado para evaluar la estabilidad de las formulaciones. Se realizó usando una columna Symmetry C-18 4,6x150 mm, una solución de CH₃CN/CH₃OH/H₂O 45/45/10 como eluyente, un flujo de 1 ml/min y un detector de espectrometría de masas. El porcentaje de cantidad de EPA y DHA detectado se expresó como % en peso.

También se realizaron otros ensayos de estabilidad:

10 El análisis de estabilidad después de la autooxidación inducida por radiación y por alta temperatura se realizó de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Autooxidación inducida por radiación: una cantidad de 100 mg de la formulación se dispersó en una placa Petri de 5 cm de diámetro, que se colocó a una distancia de 12 cm de la fuente de luz y se expuso a la luz durante 24 horas. La fuente de luz está constituida por una lámpara de 13W con un espectro de emisión desde 300 hasta 640 nm, con picos a: 440, 490, 540, 590 y 610 nm. El ensayo se llevó a cabo a 22°C a 60% RH.

15 - Autooxidación inducida por alta temperatura: una cantidad de 100 mg de la formulación se colocó en un recipiente ámbar y se puso en una estufa a 60°C durante un mes.

Formulación 1

- n-3 PUFA: 5,0 g

- Neusilin U.S.-2: 5,0 g

20 n-3 PUFA se añadió a Neusilin U.S.-2 en pequeñas porciones, mezclándolo manualmente para obtener un sólido homogéneo. Los ensayos de estabilidad se llevaron a cabo a 25°C a 60% RH, 30°C a 60% RH y 40°C a 70% RH como se describió anteriormente para 1, 3 y 6 meses.

Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 1

Tabla 1

Temperatura °C	1 mes		3 meses		6 meses	
	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
25	98	97	33	28	0	0
30	85	86	21	16	0	0
40	69	67	0	0	0	0

25 Otras formulaciones se prepararon, añadiendo un antioxidante natural a la formulación 1, para evaluar la inhibición de la degradación de omega-3.

Los resultados de los ensayos de estabilidad realizados después de la autooxidación inducida por radiación se resumen en la Tabla 2.

30 Tabla 2

Antioxidante	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)	% peso/peso Antioxidante	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
No usado	22	24	0	<5	<5
Resveratrol	22	24	1,14	57	55

ES 2 615 630 T3

α-tocoferol	22	24	2,15	51	47
Coenzima Q10	22	24	4,32	55	53
Palmitato de ascorbilo	22	24	2,07	15	13
Epigallocatequina	22	24	2,30	<5	<5
Hidroxitiroxol	22	24	0,77	<5	<5
Oleorupina	22	24	2,70	<5	<5
Ácido ascórbico	22	24	0,88	<5	<5
Ácido Lipoico	22	24	1,00	<5	<5

Los resultados de los ensayos de estabilidad realizados después de la autooxidación durante un mes inducida por alta temperatura se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3

Antioxidante	Temperatura (°C)	% peso/peso Antioxidante	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
No usado	60	-	52	45
Resveratrol	60	1,14	68	64
Coenzima Q10	60	4,32	64	65
Palmitato de ascorbilo	60	2,07	58	56
α-tocoferol	60	2,15	57	55
Ácido ascórbico	60	0,88	56	54
Ácido Lipoico	60	1,00	53	50
Hidroxitirosol	60	0,77	40	36
Oleorupina	60	2,70	38	35
Epigallocatequina	60	2,30	35	30

5

Después de estos ensayos de estabilidad preliminares se prepararon otras formulaciones usando la Coenzima Q10, α-tocoferol y resveratrol como oxidantes.

Formulación 2

- n-3 PUFA 4,9 g
- 10 - α-tocoferol 0,1 g
- Neusilin U.S.-2: 5,0 g

El α-tocoferol se añadió al n-3 PUFA y la solución se dejó bajo agitación mecánica a 600 rpm durante 3 horas a 22°C a 60% RH; se observó una solución clara. La solución se añadió después al Neusilin U.S.-2 en pequeñas porciones, mezclándolo manualmente para obtener un sólido homogéneo.

ES 2 615 630 T3

Los ensayos de estabilidad a 3 meses se llevaron a cabo a 25°C, 30°C y 40°C como se describió anteriormente. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

Formulación 3

- n-3 PUFA 4,9 g
- 5 - Coenzima Q10 0,1 g
- Neusilin U.S.-2: 5,0 g

La Coenzima Q10 se añadió al n-3 PUFA y la solución se dejó bajo agitación mecánica a 600 rpm durante 1 hora a 22°C a 60% RH; se observó una solución clara. La solución se añadió después al Neusilin U.S.-2 en pequeñas porciones, mezclándolo manualmente para obtener un sólido homogéneo.

- 10 Los ensayos de estabilidad a 3 meses se llevaron a cabo a 25°C, 30°C y 40°C como se describió anteriormente. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

Formulación 4

- PUFA 4,9 g
- Resveratrol 0,1 g
- 15 - Neusilin U.S.-2: 5,0 g

n-3 PUFA se añadió al Neusilin U.S.-2 en pequeñas porciones, mezclándolo manualmente para obtener un sólido homogéneo.

Resveratrol se añadió después y la formulación se mezcló otra vez para obtener un sólido homogéneo.

- 20 Los ensayos de estabilidad a 3 meses se llevaron a cabo a 25°C, 30°C y 40°C como se describió anteriormente. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4

Formulación	Antioxidante	Temperatura (°C)	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
2	α-Tocoferol	25	92	89
		30	80	77
		40	47	42
3	Coenzima Q10	25	0	0
		30	0	0
		40	0	0
4	Resveratrol	25	96	96
		30	96	95
		40	90	89

Para evaluar la relación entre la cantidad de resveratrol y la eficacia antioxidante, se preparó otra formulación.

Formulación 5

- 25 - PUFA 4,9 g
- Resveratrol 0,12 g

ES 2 615 630 T3

- Neusilin U.S.-2: 5 g

n-3 PUFA se añadió al Neusilin U.S.-2 en pequeñas porciones, mezclándolo manualmente para obtener un sólido homogéneo.

5 Resveratrol se añadió después y la formulación se mezcló otra vez para obtener un sólido homogéneo. Los ensayos de estabilidad a 3 y 6 meses se llevaron a cabo a 25°C como se describió anteriormente.

Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 5.

Tabla 5

Tiempo (meses)	Temperatura (°C)	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
3	25	99	95
6	25	98	94

Se ensayó también otro soporte sólido inerte.

10 Formulación 6

- PUFA: 1,0 g

- Syloid XDP: 1,0 g

15 n-3 PUFA se añadió al Syloid XDP en pequeñas porciones, mezclándolo para obtener un sólido homogéneo. Los resultados de los ensayos de estabilidad realizados después de la autooxidación inducida por radiación y por alta temperatura se recogen en la Tabla 6.

Incluso en este caso se preparó una formulación que contiene resveratrol, para evaluar su efecto estabilizante.

Formulación 7

- PUFA: 0,5 g

- Resveratrol: 0,01 g

20 - Syloid XDP: 0,5 g

n-3 PUFA se añadió al Syloid XDP en pequeñas porciones, mezclándolo para obtener un sólido homogéneo. Resveratrol se añadió después y la formulación se mezcló otra vez para obtener un sólido homogéneo.

Los resultados de los ensayos de estabilidad realizados después de la autooxidación inducida por radiación y alta temperatura se resumen en la Tabla 6.

25 Tabla 6

Formulación	Antioxidante	Temperatura (°C)	Tiempo	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)
6	Ninguno	22	24 horas	<5	<5
		60	1 mes	67	62
7	Resveratrol	22	24 horas	77	75
		60	1 mes	74	70

Discusión de resultados:

5 A partir de los datos recogidos en la presente invención se muestra que el resveratrol es el antioxidante natural que muestra el mejor efecto estabilizante sobre la degradación de omega-3 en las formulaciones sólidas. De hecho, si bien a partir de los resultados recogidos en la Tabla 1 es posible observar que ya después de tres meses EPA y DHA están significativamente degradados, a partir de los ensayos iniciales es evidente que el resveratrol, Coenzima Q10, α -tocoferol, y palmitato de ascorbilo son capaces de mejorar la estabilidad.

10 Sin embargo, como se demuestra por los datos de la Tabla 4, sorprendentemente el resveratrol es el único oxidante natural capaz de mantener las formulaciones sólidas estables que contienen omega-3 durante periodos más largos; de hecho, la recuperación media de omega-3 en las formulaciones que contienen 1% de resveratrol es del 90% después de 3 meses a 40°C, mientras que para las formulaciones que contienen 1% de α -tocoferol la recuperación es solo del 45%: el poder oxidante del resveratrol puede entonces considerarse dos veces con respecto al del α -tocoferol, y esta diferencia es estadísticamente significativa.

15 Una ventaja adicional se representa por la proporcionalidad directa entre la eficacia antioxidante y la cantidad de resveratrol usada: a partir de los datos de la Tabla 5 es posible observar que cuando la cantidad de resveratrol aumenta de 1% a 1,2% la recuperación de n-3 PUFA se mantiene al 96% después también de 6 meses.

Además, el proceso de preparación de las presentes composiciones es sencillo y particularmente adecuado para su aplicación industrial.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición sólida que comprende ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol adsorbido en un sustrato inerte seleccionado del grupo que consiste en: gránulos ultraligeros finos de aluminometasilicato de magnesio y un portador de sílice; en donde la recuperación de n-3 PUFA después de 6 meses a 25°C es al menos del 96% en peso.
2. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la recuperación de n-3 PUFA después de 3 meses a 30°C es al menos del 95% en peso.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la recuperación de n-3 PUFA después de 3 meses a 40°C es al menos del 90% en peso.
- 10 4. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico o mezclas de los mismos.
5. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la relación entre el ácido eicosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico está comprendida entre 0,5 y 2.
- 15 6. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) están en una cantidad comprendida entre 0,5 y 1,0 g, preferiblemente entre 0,8 y 0,9 g, más preferiblemente 0,9 g.
- 20 7. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ácidos grasos que tienen un contenido en EPA y DHA comprendido entre 75% y 95% en peso, preferiblemente al menos 85%, del peso total de ácidos grasos, y en donde el contenido total de n-3 PUFA es al menos el 90% en peso del peso total de ácidos grasos.
- 25 8. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ésteres etílicos de EPA y DHA en una relación comprendida entre 0,9 y 1,5 y el contenido del éster etílico de EPA está comprendido entre 40 y 51% en peso y el contenido del éster etílico de DHA está comprendido entre 34 y 45% en peso del peso total de ácidos grasos.
9. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque los alquil ésteres de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en etilo, metilo, propilo o mezclas de los mismos.
- 30 10. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la relación entre los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y el resveratrol está comprendida entre 0,01 y 0,1, se prefiere 0,02.
11. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que el sustrato inerte es Neusilin® U.S.-2.
12. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-11, en forma de suplemento dietético o medicamento para administración oral.
- 35 13. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-12, que comprende además una o más vitaminas, minerales, coenzimas, antioxidantes y/o extractos de plantas, y/o al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
14. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-13, caracterizada porque está encapsulada por cápsulas de gelatina blanda, teniendo opcionalmente un recubrimiento entérico, para administración oral.
- 40 15. La composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-14, para uso en la prevención o tratamiento de enfermedades cardiovasculares debidas a trastornos del metabolismo de lípidos y al incremento de la agregación plaquetaria; daños debidos a radicales libres seleccionados del grupo que consiste en aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria de las articulaciones, asma, diabetes, demencia senil y enfermedad degenerativa de los ojos; y/o enfermedades virales.