

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 659 466**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 47/44 (2007.01)

A61K 31/565 (2006.01)

A61K 31/57 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.02.2013 PCT/EP2013/053686**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.09.2013 WO13127728**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2013 E 13705798 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.01.2018 EP 2819649**

54 Título: **Emulsión que contiene hormonas**

30 Prioridad:

29.02.2012 EP 12157546

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

15.03.2018

73 Titular/es:

B. BRAUN MELSUNGEN AG (100.0%)

Carl-Braun-Strasse 1

34212 Melsungen, DE

72 Inventor/es:

KASPAR, ILONA;

KRÜGER, VOLKER;

RÖTHLEIN, DORIS;

WOLF, MARTIN y

SCHMITT, JÜRGEN

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 659 466 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

Emulsión que contiene hormonas

5 La invención se refiere a una emulsión de aceite en agua que contiene hormonas para administración parenteral que comprende progestágeno y/o estrógeno; y a triglicéridos de aceite de pescado así como a una composición farmacéutica que comprende o consiste en dicha emulsión de aceite en agua. La composición farmacéutica es especialmente para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras accidentes cerebrovasculares y/o traumatismo y/o para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras conmoción cerebral y/o

10 lesión traumática del sistema nervioso central.

Antecedentes

15 El traumatismo craneoencefálico (TBI) es una lesión no degenerativa y no congénita del cerebro provocada por una fuerza mecánica externa, que conduce probablemente a alteraciones permanentes o temporales de las funciones cognitivas, físicas y psicosociales con un estado de conciencia asociado disminuido o alterado. Algunos pacientes tienen una necesidad a largo plazo o de por vida de ayuda para realizar actividades de la vida diaria como resultado de TBI.

20 A pesar de la enormidad del problema que plantea el TBI, actualmente no hay medicamentos aprobados que esté demostrado que sean eficaces para mejorar la mortalidad o para mejorar los desenlaces tras TBI. Sin embargo, dos ensayos clínicos recientes han demostrado un tratamiento satisfactorio de TBI con la hormona esteroidea progesterona (Xiao *et al.*, 2008, Crit. Care, 12: R61; Wright *et al.* Ann. Emerg. Med. 2007, 49: 391-402). Ambos estudios mostraron que la progesterona es segura y se tolera bien en pacientes con TBI, y que la administración de

25 progesterona a pacientes con TBI conduce a una mortalidad disminuida. Además, las solicitudes de patente WO 2006/102644, WO 2006102596, WO 2008/039898, US 2011/0262494 y US 2011/0262495 esbozan métodos para el tratamiento de TBI mediante la administración por vía parenteral de progestágeno.

30 El documento US 2007/0071777 A1 da a conocer un proceso para la preparación de emulsiones de aceite isotónicas que contienen estrógeno y progestágeno para administración intravenosa, que comprende las etapas de:

(A) disolver al menos una de las hormonas estrógeno y progestágeno en una fase oleosa; y

35 (B) emulsionar la fase oleosa en la fase acuosa;

en presencia de un emulsionante.

Además, Alkayed *et al.* en Stroke 31, 161 (2003) describen la influencia positiva de estrógenos y progesteronas administrados por vía subcutánea en el estado de pacientes con accidente cerebrovascular.

40 Un accidente cerebrovascular (ACV), también conocido como ictus, es la pérdida rápida de la función/las funciones cerebral(es) debido a una alteración en el riego sanguíneo al cerebro. Esto puede deberse a isquemia (falta de circulación sanguínea) provocada por un bloqueo (trombosis, embolia arterial) o una hemorragia (pérdida de sangre). Como resultado, la zona del cerebro afectada no puede funcionar, lo que puede dar como resultado la

45 incapacidad para mover una o más extremidades en un lado del cuerpo, la incapacidad de comprender o formular el habla, o una incapacidad de ver un lado del campo visual.

Un accidente cerebrovascular es una urgencia médica y puede provocar daño neurológico permanente, complicaciones y la muerte. Es la causa principal de incapacidad en adultos en Estados Unidos y en Europa, y la segunda causa de muerte a nivel mundial. Los factores de riesgo para el accidente cerebrovascular incluyen edad avanzada, hipertensión (tensión arterial alta), accidente cerebrovascular previo o accidente isquémico transitorio (TIA), diabetes, colesterol alto, fumar cigarrillos y fibrilación auricular. Una tensión arterial alta es el factor de riesgo más importante que puede modificarse del accidente cerebrovascular.

55 La vía de administración más eficaz de progestágenos tales como progesterona y/o estrógeno tal como estradiol es por medio de la vía parenteral tal como la administración intravenosa. Sin embargo, la naturaleza hidrófoba de las moléculas de progesterona y/o estradiol, por tanto, su escasa solubilidad en agua, presenta limitaciones de formulación. Las disoluciones acuosas no ofrecen formulaciones que puedan administrar dosis terapéuticas eficaces de progesterona a pacientes. Sin embargo, la progesterona y/o el estradiol son suficientemente lipófilos para permitir

60 que se preparen concentraciones terapéuticamente eficaces en disolventes hidrófobos, tales como disolventes a base de triglicéridos.

En la técnica se conoce la administración de fármacos hidrófobos por medio de infusión intravenosa de emulsiones de aceite en agua. En Wright *et al.*, Ann. Emerg. Med. 2007, 49: 391-402 se utiliza un sistema de 2 componentes, en

65 el que se disuelve en primer lugar progesterona en una disolución alcohólica (primer componente), y esta disolución alcohólica de progesterona se inyecta posteriormente en la emulsión lipídica disponible comercialmente Intralipid®

20% (Fresenius Kabi, Suecia) (segundo componente), y se mezcla manualmente (tal como mediante agitación) poco antes de la administración intravenosa de la mezcla de disolución alcohólica/emulsión. Existen múltiples desventajas del uso de este método de preparación:

- 5 en primer lugar, la administración de disoluciones alcohólicas a pacientes con TBI no es deseable. En segundo lugar, mientras que la presencia de alcohol ayuda a la solubilización de la progesterona y/o el estradiol, el mezclado manual de baja cizalladura no permite que toda la progesterona/el estradiol entre en la fase oleosa. Por consiguiente, tales emulsiones pueden solubilizar sólo una cantidad limitada de progesterona o estradiol, y por tanto, deben administrarse grandes cantidades de lípidos con el fin de lograr los niveles séricos de progesterona y/o
- 10 estrógeno deseados. Sin embargo, la administración de grandes volúmenes de emulsión, y/o grandes cantidades de lípidos al paciente, puede tener consecuencias graves, tales como inducción de hiperlipidemia o edema. Como resultado, el paciente se expone a una carga de lípidos y/o líquidos no deseable, y se encuentra en riesgo de sufrir reacciones adversas.
- 15 Además, el progestágeno y/o estrógeno no disuelto es susceptible de cristalización, y posteriormente oxidación en la fase acuosa, provocando por tanto, no sólo que se acumulen niveles elevados de materia particulada en la composición, sino también altos niveles de productos de degradación del principio activo. En efecto, se ha demostrado que, cuando se inyecta una disolución alcohólica de progesterona en una composición de emulsión lipídica comercial (tal como Intralipid® 20%), una fracción de la hormona se encuentra en forma cristalina en vez de
- 20 solubilizarse en la emulsión. Se ha notificado que esta progesterona no solubilizada se adsorbe en la superficie de las bolsas de infusión y conductos de alimentación. La observación de que no toda la progesterona entra en la fase oleosa de estas emulsiones de 2 componentes conduce a incertidumbre en cuanto a la concentración de progesterona lograda en la composición final, y la biodisponibilidad de la hormona.
- 25 Finalmente, debido a problemas de estabilidad, la mezcla de progesterona-lípidos de sistemas de 2 componentes debe prepararse sólo horas antes de la administración (es decir, el primer componente se añade al segundo componente y se mezcla en el plazo de horas de uso), ya que la mezcla resultante no puede almacenarse a temperatura ambiente. Para los profesionales sanitarios, resulta tanto prolongado como inconveniente preparar tales mezclas a petición, y es particularmente insatisfactorio en el contexto de la terapia de TBI, donde un rápido
- 30 tratamiento puede ser importante para el desenlace del paciente.

Métodos alternativos para producir las emulsiones que contienen hormonas describen la incorporación de hormonas directamente en el aceite durante la fabricación de la emulsión lipídica (documento WO 2004/110402).

- 35 El documento CN 101152186 describe el uso de los tensioactivos Solutol S15 o poloxámero 188 en la preparación de formulaciones de progesterona inyectables. Aunque el uso de estos tensioactivos puede lograr una alta solubilidad de progesterona, la administración intravenosa de altas concentraciones de estos tensioactivos está asociada con efectos secundarios no deseables incluyendo elevación moderada en la liberación de histamina, urticaria y reacciones anafilácticas (prurito, eritema).
- 40 Un método conocido en la técnica para aumentar la solubilidad de progesterona y/o estradiol en emulsiones lipídicas es el uso de disolventes orgánicos. La progesterona es altamente soluble en ácido benzoico o sus derivados. Por ejemplo, el documento JP 60-258110 describe el uso de benzoato de bencilo para aumentar la solubilidad de la progesterona en una emulsión lipídica. Sin embargo, puesto que los alcoholes bencílicos y el benzoato de bencilo
- 45 son comúnmente tóxicos y se sabe que provocan alergias, su inclusión en composiciones para administración parenteral se considera un peligro grave.

Independientemente de los problemas asociados con la solubilidad y la estabilidad de las emulsiones, sigue habiendo el problema de mejorar la eficacia de las hormonas en el tratamiento o la profilaxis de daños neurológicos.

- 50 Se ha encontrado sorprendentemente que los problemas asociados con la técnica anterior pueden resolverse mediante una emulsión de aceite en agua que contiene hormonas para administración parenteral tal como se define en la reivindicación independiente 1.

55 Definiciones

El término "aceite" tal como se usa en el presente documento es fácilmente intercambiable con "lípidos" y "grasa", y se refiere a compuestos orgánicos lipófilos de alto punto de ebullición que son líquidos a las temperaturas corporales, (por ejemplo, de aproximadamente 37°C), y son farmacológicamente aceptables en formulaciones

60 inyectables. Los aceites de la presente invención engloban tanto glicéridos, glicéridos parciales, residuos de ácidos grasos como no glicéridos así como mezclas de los mismos. Los fosfolípidos, a menos que se indique lo contrario, no están englobados por el término "aceite" tal como se usa en el presente documento.

- 65 El término "emulsión de aceite en agua" tal como se usa en el presente documento, se refiere a un sistema de dispersión coloidal en el que se dispersa aceite líquido en pequeñas gotitas (la fase discreta) en un medio acuoso (la fase continua).

El término “fosfolípido” tal como se usa en el presente documento se refiere a un éster de glicerol con uno o dos ácidos grasos y un grupo fosfato. Además de fosfolípidos derivados de glicerol, el término “fosfolípido” tal como se usa en el presente documento también engloba esfingomielina.

5 El término “medio acuoso” tal como se usa en el presente documento se refiere a un líquido que contiene agua. Tal como se usa en el presente documento, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” designan tanto el singular como el plural, a menos que se indique expresamente que designan el singular solamente.

10 Tal como se usa en el presente documento, la expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” significa la dosificación de fármaco que proporciona la respuesta farmacológica específica para la que se administra el fármaco en un sujeto que necesita tal tratamiento. Se hace hincapié en que una cantidad terapéuticamente eficaz o nivel terapéutico de un fármaco no será siempre eficaz en el tratamiento de los estados/enfermedades descritos en el presente documento, aun cuando los expertos en la técnica consideran tal dosificación es una cantidad terapéuticamente eficaz. Por
15 motivos de conveniencia solamente, se proporcionan a continuación dosificaciones, cantidades de administración de fármaco, cantidades terapéuticamente eficaces y niveles terapéuticos a modo de ejemplo con referencia sujetos humanos adultos. Los expertos en la técnica pueden ajustar tales cantidades según prácticas convencionales según sea necesario para tratar a un sujeto y/o estado/enfermedad específicos.

20 A menos que se indique lo contrario, siempre que se haga referencia en el presente documento a “peso en porcentaje por volumen” o “% de peso/vol.” estos términos describen la masa del componente en g por 100 ml de la composición en la que está contenido. A menos que se indique lo contrario, siempre que se haga referencia en el presente documento a “peso en porcentaje por peso” o “% de peso/peso” estos términos indican la masa de un componente como un porcentaje de la masa de la composición en la que está contenido el componente.

25 Siempre que se haga referencia a “PCS” o “espectroscopía de correlación de fotones” en el presente documento, lo que significa es PCS tal como se mide según el método descrito en la USP, capítulo <729>, método I, usando el instrumento Zetasizer 1000 HSA (Malvern Instruments).

30 Siempre que se haga referencia a $d(0,5)$ (diámetro medio basado en volumen) en el presente documento, lo que significa es $d(0,5)$, medido según el método descrito en la USP <429> (medición por difracción de la luz del tamaño de partícula), usando el instrumento Mastersizer 2000 con una unidad de dispersión Hydro S (Malvern Instruments).

35 Siempre que se haga referencia a “potencial cero” en el presente documento, lo que significa es el potencial electrocinético en sistemas coloidales tal como se determina experimentalmente usando un instrumento Zetasizer 1000 HAS (Malvern Instruments).

40 Siempre que se use el término “libre de sólido cristalino” en el presente documento, significa que las emulsiones de la presente invención cumplen los criterios para el tamaño y el recuento de materia particulada en líquidos para inyección (USP 788, método 2: Prueba de recuento de partículas microscópicas).

Descripción detallada

45 Una primera realización de la presente invención es una emulsión de aceite en agua que contiene hormonas para administración parenteral tal como se define en la reivindicación independiente 1.

Las realizaciones preferidas se reflejan en las reivindicaciones dependientes.

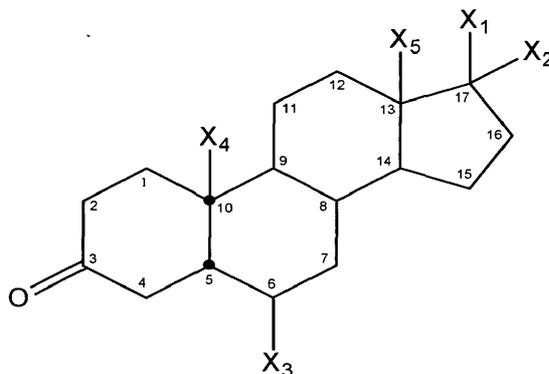
50 La emulsión de aceite en agua de la presente invención comprende un aceite y una fase acuosa.

La emulsión de aceite en agua de la presente invención comprende un progestágeno y/o estrógeno como principio farmacéutico activo (API).

55 Tal como se usa en el presente documento, “progestágeno” incluye tanto progesterona natural como progestágenos sintéticos. En general, los progestágenos tienen la fórmula general I, en la que X1 y X2 se seleccionan independientemente de -COCH₃, -OCOC₅H₁₁, -OH, etinilo, -OCOCH₃, -H, -CH₂CN; en la que X3 se selecciona de -H, -CH₃, o -Cl; en la que X4 se selecciona de -H, -OH, o -CH₃, y en la que X5 se selecciona de CH₃ o CH₂CH₃. El progestágeno puede contener estructuras de anillo con uno de más dobles enlaces, por ejemplo entre los carbonos 3 y 4, 4 y 5, 5 y 6, 6 y 7, 5 y 10, 10 y 9 y/o 15 y 16.

60

Fórmula I:



Tales progestágenos incluyen, por ejemplo, derivados de progesterona tales como 5- α -dihidroprogesterona, 6-deshidro-retroprogesterona (didrogesterona), caproato de hidroxiprogesterona, levonorgestrel, noretindrona, acetato de noretindrona; noretinodrel, norgestrel, medroxiprogesterona, clormadinona y megestrol. "Progestágeno" también incluye, pero no se limita a modificaciones que producen ésteres de 17 α -OH-progesterona, así como modificaciones que introducen sustituyentes 6- α -metilo, 6-metilo, 6-eno y 6-cloro en la progesterona, y/o 19-nor-progesteronas. Además, los ejemplos no limitativos, de progestágenos sintéticos incluyen, noretindrona (Micronor®), norgestrel (Ovrette®), levonorgestrel (Norplant®; con etinilestradiol; Alesse®, Nordette®), gestodeno, acetato de medroxiprogesterona (Provera®), promegestona, acetato de nomegestrol, linostrenol y dienogest.

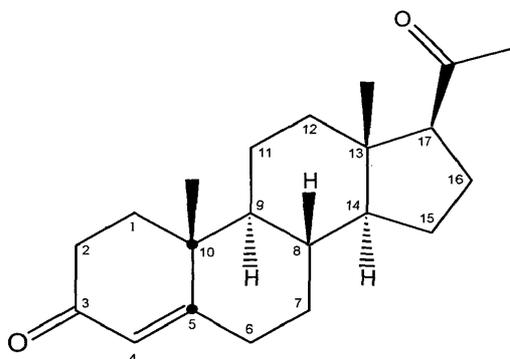
En una realización, el progestágeno se selecciona del grupo que consiste en progesterona, noretinodrel, acetato de noretidrona, medroxiprogesterona, 17-acetato de medroxiprogesterona, levonorgestrel, didrogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, noretidrona, gestodeno, acetato de nomegestrol, promegestona, dienogest, clormadinona, megestrol, acetato de megestrol, y/o mezclas de los mismos.

En realizaciones específicas, el progestágeno se selecciona del grupo que consiste en 5- α -dihidroprogesterona, medroxiprogesterona, didrogesterona y progesterona y/o mezclas de las mismas.

En una realización adicional, el progestágeno se selecciona del grupo que consiste en pregnelonona, progesterona, medroxiprogesterona y sus derivados farmacéuticamente aceptables.

En realizaciones específicas, el progestágeno es progesterona. El término "progesterona" tal como se usa en el presente documento se refiere a un miembro de la familia del progestágeno que tiene la estructura de la fórmula II a continuación:

Fórmula II:



La progesterona también se conoce como D4-pregneno-3,20-diona; delta-4-pregneno-3,20-diona; o pregn-4-en-3,20-diona. En realizaciones muy específicas la progesterona está micronizada. Proquina (México) es un proveedor de progesterona micronizada.

El progestágeno (por ejemplo, cualquier progestágeno, incluida la progesterona) que es adecuado para su uso según la presente invención puede estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

La emulsión de aceite en agua de la invención puede comprender una cantidad de progestágeno de al menos 0,1 g/l, preferiblemente al menos 0,15 g/l, más preferiblemente que oscila entre 0,15 g/l y 12,0 g/l, además preferiblemente entre 0,8 g/l y 4,0 g/l, especialmente entre 1,0 g/l y 2,5 g/l.

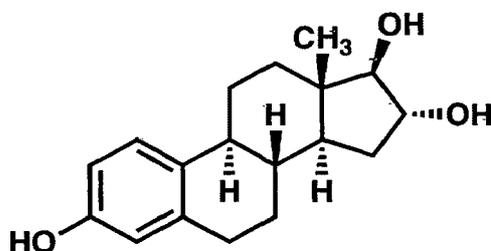
- 5 En una realización preferida, la emulsión de aceite en agua comprende progesterona en una cantidad que oscila entre 0,15 g/l y 12 g/l.

- 10 La emulsión de aceite en agua de la presente invención puede comprender una cantidad de progestágeno (por ejemplo, progesterona) de al menos 0,3 g/l, al menos 0,5 g/l, al menos 1 g/l. Según cualquiera de estas realizaciones, la emulsión puede comprender una cantidad de progestágeno (por ejemplo, progesterona) menor de o igual a 3,0 g/l, menor de o igual a 2,5 g/l, o menor de o igual a 2,0 g/l. En una realización particular, la emulsión de aceite en agua de la invención comprende de aproximadamente 1,0 g/l a 2,0 g/l de progesterona, de manera específica aproximadamente 1,5 g/l progesterona.

- 15 Según una realización alternativa de la invención, la emulsión de aceite en agua comprende uno o más estrógenos.

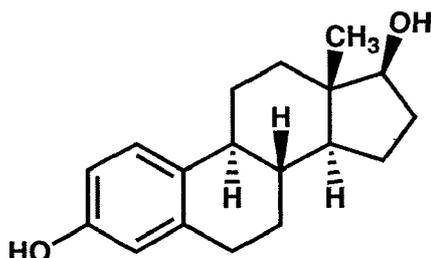
En una realización preferida, la emulsión comprende estriol (1,3,5(10)-estratrieno-3,16 α ,17 β -triol) que se refleja en la fórmula III a continuación:

Fórmula III:



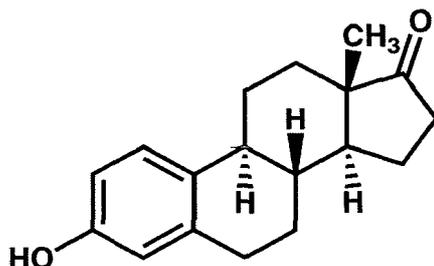
- 20 En una realización adicional, la emulsión comprende estradiol (1,3,5(10)-estratrieno-3,17 β -diol) que se refleja en la fórmula IV a continuación:

Fórmula IV:



- 25 En una realización adicional la emulsión comprende estrona que se refleja en la fórmula V a continuación:

Fórmula V:



Según una realización preferida de la invención, la emulsión de aceite en agua comprende estrógenos seleccionados del grupo que consiste en estradiol, estrona, estriol y derivados así como mezclas de los mismos.

Se prefiere específicamente estradiol.

Los estrógenos están presentes preferiblemente en la emulsión de aceite en agua en una cantidad que oscila entre 0,015 g/l y 5 g/l, más preferiblemente entre 0,015 g/l y 1,5 g/l y lo más preferiblemente entre 0,05 g/l y 0,3 g/l (gramos por litro), basándose en la emulsión.

En una realización preferida, la emulsión comprende estradiol en una cantidad que oscila entre 0,015 g/l y 1,5 g/l, preferiblemente entre 0,05 g/l y 1,0 g/l, más preferiblemente entre 0,08 g/l y 0,5 g/l y especialmente entre 0,1 g/l y 0,3 g/l.

Según una realización adicional de la presente invención, la emulsión de aceite en agua comprende una combinación de progestágeno y estrógeno. La razón en peso de progestágeno con respecto a estrógeno en la emulsión puede ser de 2:1 a 500:1, preferiblemente de 2:1 a 200:1, además preferiblemente de 5:1 a 50:1 y más preferiblemente de 10:1 a 20:1.

Preferiblemente, la emulsión de aceite en agua comprende estradiol y/o progesterona. Una realización de la invención se refiere a la combinación de estrona con pregnenolona y/o progesterona, otra a la combinación de estriol con pregnenolona y/o progesterona. Una realización alternativa, particularmente preferida, se refiere a la combinación de estradiol y/o pregnenolona y/o progesterona, especialmente con progesterona. En ambas alternativas, puede contenerse adicionalmente medroxiprogesterona, o puede sustituirse medroxiprogesterona por pregnenolona y/o progesterona. Por tanto, también pueden combinarse más de dos hormonas según la invención.

Para una mejor dosificación de las emulsiones de aceite en agua, las emulsiones originales pueden diluirse, si es necesario, con una cantidad adecuada de agua, preferiblemente con hasta cuatro veces la cantidad de agua.

La fase oleosa de la emulsión de aceite en agua comprende al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso (% en peso), más preferiblemente al menos el 55% en peso, más preferiblemente al menos el 60% en peso y lo más preferiblemente al menos el 65% en peso de dichos ácidos grasos. La cantidad de triglicéridos de aceite de pescado se basa en la cantidad total del componente oleoso. En la Farmacopea Europea (EP), hay dos monografías (es decir, EP 1352 titulada "Triglicéridos de ácidos grasos omega 3" y EP 1912 titulada "Aceite de pescado, rico en ácidos grasos omega 3") que están relacionadas con aceite de pescado que es aceptable para su uso en emulsiones parenterales (EP 1352, EP 1912, 2008). La monografía EP 1352 difiere sustancialmente de EP 1912 en que la composición y los requisitos para los n3-AG bioactivos en EP 1352 son mucho mayores que en EP 1912 (EP 1352: EPA + DHA \geq 45%; n3-AG totales \geq 60% frente a EP 1912: EPA: \geq 13%; DHA \geq 9%; n3-AG totales \geq 28%). Los niveles de n3-AG en EP 1912 son coherentes con los encontrados en la naturaleza. Por comparación, en EP 1352, las concentraciones de n3-AG son sustancialmente mayores y pueden obtenerse mediante un proceso de enriquecimiento tal como destilación molecular, mediante la cual se eliminan determinados ácidos grasos no deseables que están presentes, por ejemplo, ácido mirístico, ácido palmítico y ácido esteárico. Al hacer eso, las concentraciones de todos los ácidos grasos presentes, y particularmente los ácidos grasos omega 3, se elevan proporcionalmente. En una realización a modo de ejemplo, los triglicéridos de aceite de pescado incluyen ácidos grasos omega 3 en una cantidad de al menos el 60%, preferiblemente al menos el 65% en peso, basándose en el peso total de los ácidos grasos de los triglicéridos de aceite de pescado. Los triglicéridos de aceite de pescado incluyen una cantidad total de ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) de al menos el 45%, preferiblemente al menos el 50% en peso, basándose en el peso total de los ácidos grasos de los triglicéridos de aceite de pescado. Por ejemplo, los ácidos grasos y ácidos grasos omega 3 (tales como, por ejemplo, EPA y DHA) comentados en el presente documento se refieren a partes constituyentes de tales ácidos en un triglicérido de aceite de pescado, según EP 1352. Por ejemplo, los ácidos grasos y ácidos grasos omega 3 (tales como, por ejemplo, EPA y DHA) comentados se encuentran en su forma esterificada cuando están presentes en los triglicéridos de aceite de pescado.

Según la invención, los triglicéridos de aceite de pescado comprenden ácidos grasos omega 3 compuestos por ácido eicosapentaenoico en una cantidad del 30% o más, ácido docosahexaenoico en una cantidad del 30% o menos, y ácido docosapentaenoico en una cantidad de aproximadamente el 40% o menos, basándose en el peso del contenido en ácidos grasos omega 3 total.

Los triglicéridos de aceite de pescado pueden contener al menos un ácido graso omega 6, por ejemplo, una pluralidad de ácidos grasos omega 6. El al menos un ácido graso omega 6 puede incluir, por ejemplo, ácido araquidónico o AA (20:4n6), ácido linoleico o LA (18:2n6), ácido gamma-linolénico o ALA (18:3n6) o una combinación de los mismos. Por ejemplo, el contenido total del al menos un ácido graso omega 6 puede ser desde aproximadamente el 0,1% hasta aproximadamente el 1,0%, o desde aproximadamente el 0,2% hasta aproximadamente el 0,9%, o desde aproximadamente el 0,3% hasta aproximadamente el 0,8%, o desde aproximadamente el 0,4% hasta aproximadamente el 0,7%, o desde aproximadamente el 0,5% hasta aproximadamente el 0,6%, basándose en el peso de los ácidos grasos que se esterifican con glicerol para formar el

triglicérido de aceite de pescado.

5 Puede hacerse la determinación del contenido de los ácidos grasos omega 3 (n3-AG) tal como se describe en la Farmacopea Europea "Aceite de pescado, rico en ácidos grasos omega 3". El contenido de n3-AG puede ser de cualquier n3-AG individual, o cualquier combinación de los mismos. En una realización a modo de ejemplo, la composición puede contener EPA, DHA, DPA o una combinación de los mismos, por ejemplo, cada de EPA, DHA y DPA. La dosificación individual, por ejemplo, la dosificación diaria total, de ácido eicosapentaenoico (EPA) puede variar desde 0 hasta 300 mg/kg de la formulación, por ejemplo, desde 50 hasta 250 mg/kg, por ejemplo, desde 100 hasta 200 mg/kg, basándose en el peso corporal. La dosificación individual, por ejemplo la dosificación diaria total, de ácido docosahexaenoico (DHA) puede variar desde 0 hasta 300 mg/kg de la formulación, por ejemplo, desde 50 hasta 250 mg/kg, por ejemplo, desde 100 hasta 200 mg/kg, basándose en el peso corporal. La dosificación individual, por ejemplo la dosificación diaria total, de ácido docosapentaenoico (DPA) puede variar desde 0 hasta 300 mg/kg de la formulación, por ejemplo, desde 50 hasta 250 mg/kg, por ejemplo, desde 100 hasta 200 mg/kg, basándose en el peso corporal. Por ejemplo, EPA, DHA y/o DPA pueden estar presentes en cantidades que son eficaces para proporcionar neuroprotección a órganos vitales.

20 Los triglicéridos de aceite de pescado están presentes en una cantidad de al menos el 50% en peso, especialmente al menos el 75% en peso y particularmente al menos el 85% en peso, basándose cada una en el peso total del componente oleoso.

Según una realización preferida, los triglicéridos de aceite de pescado están presentes en una cantidad que oscila entre el 55 y el 95% en peso, más preferiblemente entre el 60 y el 92% en peso, especialmente entre el 70 y el 90% en peso, basándose en el peso total del componente oleoso.

25 Según la invención, la emulsión de aceite en agua comprende adicionalmente triglicéridos de cadena media (MCT) en una cantidad del 5 al 50% en peso basándose en el peso total del componente oleoso. El al menos un MCT está presente desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 50%, o desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 40%, o desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 30%, o desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 20%, o desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 15%, o desde aproximadamente el 30% hasta aproximadamente el 50%, o desde aproximadamente el 40% hasta aproximadamente el 45%, basándose en el peso total del componente oleoso de la emulsión. Por ejemplo, empleando los intervalos a modo de ejemplo de MCT, puede aumentarse la cantidad de ácidos grasos omega 3 esterificados administrada al cuerpo humano. Por ejemplo, empleando los intervalos de MCT a modo de ejemplo, puede aumentarse la cantidad de ácidos grasos omega 3 esterificados administrada al cuerpo humano con el uso de una cantidad relativamente más pequeña de MCT, mientras se logran aún características de aclaramiento metabólico y estabilidad fisicoquímica beneficiosas de la emulsión.

40 Por ejemplo, el MCT puede incluir un ácido graso saturado de cadena media saturado, por ejemplo, una pluralidad de ácidos grasos saturados de cadena media saturados. En una realización a modo de ejemplo, el MCT es un triglicérido de un ácido graso que tiene de 6 a 12 átomos de carbono. El MCT puede derivarse de una planta como una verdura, por ejemplo, una pluralidad de plantas. El MCT puede contener ácido caprílico (por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente el 50% a aproximadamente el 80% en peso del MCT), un AG saturado de 8 carbonos (8:0). El MCT puede contener ácido cáprico (por ejemplo, en una cantidad de aproximadamente el 20% a aproximadamente el 50% en peso del MCT), un AG saturado de 10 carbonos (10:0). Por ejemplo, los triglicéridos de cadena media pueden contener triglicéridos de ácido caprílico y ácido cáprico, en una cantidad de al menos el 90% en peso de los triglicéridos de cadena media. La descripción del MCT para su uso en esta divulgación puede cumplir, por ejemplo, los requisitos de la monografía de la EP 0868, titulada "Triglicéridos de cadena media" (Triglycerida saturate media) (EP 0868, 2008).

50 El aceite de las composiciones de emulsión de aceite en agua descritas en el presente documento comprende adicionalmente triglicéridos de cadena media. Los "triglicéridos de cadena media" (MCT) son otra clase de aceite de triglicéridos que puede derivarse o bien de manera natural o sintética. Los MCT se forman a partir de ácidos grasos de 6 a 14 carbonos, preferiblemente de 6 a 12 carbonos, especialmente de 8 a 10 carbonos de longitud. Los triglicéridos de cadena media (MCT) administrados con las emulsiones de aceite en agua sirven predominantemente como fuente de energía. El MCT está disponible comercialmente como, por ejemplo, Miglyol 812 (SASOL GmbH Alemania), o CRODAMOL GTCC-PN (Croda Inc, Nueva Jersey).

60 Según una realización preferida de la presente invención, la emulsión comprende un MCT que consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos que comprende al menos el 50% en peso de ácidos grasos seleccionado del grupo de ácidos grasos que tienen 7, 9 y 11 átomos de carbono.

La combinación de MCT con los triglicéridos de aceite de pescado tal como se definió anteriormente es ventajosa para las emulsiones de aceite en agua de la presente invención.

65 Según la presente invención, la emulsión de aceite en agua comprende triglicéridos de cadena media en una cantidad que oscila entre el 5 y el 50% en peso, preferiblemente entre el 10 y el 45% en peso, basándose cada una

en el peso total del componente oleoso.

En una realización preferida de la invención, la emulsión de aceite en agua comprende los triglicéridos de aceite de pescado y triglicéridos de cadena media en una razón en peso que oscila entre 1:1 y 9:1, más preferiblemente entre 1,5:1 y 8:1, especialmente entre 2:1 y 7:1.

Según una realización especialmente preferida, la cantidad de triglicéridos de aceite de pescado y MCT en la fase oleosa es de al menos el 90% en peso, preferiblemente de al menos el 95% en peso, más preferiblemente de al menos el 98% en peso, especialmente de al menos el 99% en peso, basándose en el peso total del componente oleoso.

El componente oleoso puede comprender adicionalmente aceites adicionales, que tienen preferiblemente un punto de fusión de menos de 30°C, más específicamente de menos de 20°C, e incluyendo menos de 10°C.

Preferiblemente, el componente oleoso contiene aceite que comprende al menos el 75% en peso de triglicéridos, o al menos el 85% en peso de triglicéridos, basándose en el peso total del componente oleoso. En una realización específica, el componente oleoso comprende al menos el 90% en peso de triglicéridos, o al menos el 95% en peso de triglicéridos.

En realizaciones específicas adicionales, la fase oleosa comprende adicionalmente "triglicéridos de cadena larga" (LCT).

En determinadas realizaciones, el aceite puede comprender un aceite vegetal. "Aceite vegetal" se refiere a un aceite derivado de semillas o frutos secos de plantas. Los aceites vegetales son normalmente "triglicéridos de cadena larga" (LCT), formados cuando tres ácidos grasos (habitualmente de 14 a 22 carbonos de longitud, con enlaces insaturados en números y ubicaciones variables, según la fuente del aceite) forman enlaces éster con los tres grupos hidroxilo en glicerol. En determinadas realizaciones, se usan aceites vegetales de grado altamente purificado (también denominados "superrefinados") para garantizar la seguridad y la estabilidad de las emulsiones de aceite en agua. En determinadas realizaciones, pueden usarse aceites vegetales hidrogenados, que se producen mediante la hidrogenación controlada del aceite vegetal.

Los aceites vegetales a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, aceite de almendras, aceite de babasú, aceite de semillas de grosella negra, aceite de borraja, aceite de canola, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de palma, aceite de palmiste, aceite de colza, aceite de cártamo, aceite de soja, aceite de girasol y aceite de sésamo. También pueden usarse formas hidrogenadas o parcialmente hidrogenadas de estos aceites. En realizaciones específicas, el aceite comprende adicionalmente aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de maíz, aceite de oliva y/o aceite de soja. En realizaciones más específicas, el aceite comprende adicionalmente aceite de cártamo, y/o aceite de soja.

En realizaciones específicas en las que el aceite comprende adicionalmente aceite de soja, el aceite de soja puede tener un contenido en ácido palmítico (peso/peso) de entre el 9 y el 13%, un contenido en ácido esteárico de entre el 2,5% y el 5%, un contenido en ácido oleico de entre el 17% y el 30%, un contenido en ácido linoleico de entre el 48% y el 58%, y un contenido en ácido linoléico de entre el 5% y el 11%.

Además, en una realización específica, las composiciones de emulsión de aceite en agua pueden comprender triglicéridos estructurados. Un "triglicérido estructurado" tal como se usa en el presente documento es un triglicérido que comprende triglicéridos o mezclas de triglicéridos que tienen al menos un grupo de ácido graso con una longitud de la cadena de carbonos de desde 6 hasta 12 átomos de carbono y al menos un grupo de ácido graso con una longitud de la cadena de carbonos de más de 12 unidades de carbono.

Se ha encontrado que una alta cantidad de residuos de ácidos grasos omega 3 mejora el efecto de las hormonas en el tratamiento de los pacientes. Por tanto, según una realización específica de la invención, la emulsión de aceite en agua está esencialmente libre de aceite vegetal y/u otro aceite distinto de aceite de pescado y MCT. Esencialmente libre, dentro del significado de la presente invención, significa que la cantidad es menos del 10% en peso, preferiblemente menos del 5% en peso; más preferiblemente menos del 2% en peso, especialmente menos del 1% en peso, por ejemplo menos del 0,1% en peso, basándose en el peso total de la emulsión.

La emulsión no contiene más del 0,9% en peso/peso, incluyendo no más del 0,8% en peso/peso, o no más del 0,5% en peso/peso, de un modificador de la polaridad seleccionado del grupo que consiste en monoglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos acetilados, diglicéridos acetilados, y/o mezclas de los mismos. En otra realización específica, la emulsión no contiene más del 0,9% en peso/peso, incluyendo no más del 0,8% en peso/peso, tal como no más del 0,5% en peso/peso de monoglicérido.

Expresado de manera diferente, en realizaciones específicas, la emulsión no contiene más del 30%, incluyendo no más del 20%, no más del 10%, o no más del 5% en peso de fosfolípido, de un modificador de la polaridad seleccionado del grupo que consiste en monoglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos acetilados, diglicéridos

acetilados y/o mezclas de los mismos. El uso de un modificador de la polaridad en una concentración significativa en relación con el contenido en fosfolípidos de las emulsiones puede tener un efecto adverso sobre las propiedades estabilizantes del fosfolípido.

- 5 En realizaciones específicas, la emulsión de aceite en agua comprende de 100 g/l a 300 g/l, preferiblemente de 120 g/l a 280 g/l y especialmente de 150 g/l a 250 g/l de aceite, por ejemplo 200 g/l. En determinadas realizaciones, una proporción sustancial del progestágeno y/o el estrógeno está comprendida dentro de las gotitas de aceite de la emulsión de aceite en agua. En determinadas realizaciones, un exceso del 80% del progestágeno y/o estrógeno se disuelve y permanece dentro de las gotitas de aceite. En determinadas realizaciones, más del 85%, el 90%, el 92%,
10 el 94%, el 95%, el 96%, el 97%, el 98%, el 99% o el 99,5% del progestágeno y/o el estrógeno se disuelve en la fase oleosa (determinado a 20°C).

La emulsión de aceite en agua de la presente invención comprende preferiblemente un emulsionante, que está especialmente presente en una cantidad de hasta 50 g/l o hasta 20 g/l, preferiblemente desde 2 hasta 15 g/l.

- 15 La emulsión de aceite en agua de la presente invención puede comprender además uno o más emulsionantes/tensioactivos, incluido el fosfolípido. En algunas realizaciones, el emulsionante es de origen natural. Los emulsionantes que se producen de manera natural incluyen lecitina de soja, lecitina de huevo, lecitina de aceite de girasol, esfingosina, gangliósidos, fitoesfingosina, y combinaciones de los mismos. También puede usarse lecitina hidrogenada, es decir, el producto de la hidrogenación controlada de lecitina, en la presente invención.

- En realizaciones específicas, la presente composición comprende fosfolípido como tensioactivo. Los fosfolípidos a modo de ejemplo útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, ácido fosfatídico, y mezclas de los mismos. Estos tienen normalmente de 4 a 22 átomos de carbono, tal como desde 10 hasta 18 átomos de carbono, y grados variables de saturación. El componente de fosfolípido de las composiciones puede ser o bien un fosfolípido individual o una mezcla de varios fosfolípidos. Los fosfolípidos empleados pueden ser naturales o sintéticos, pero deben ser aceptables para administración parenteral, especialmente intravenosa.

- 30 A continuación se enumera una lista no exhaustiva de fosfolípidos adecuados:

- ácidos fosfatídicos, incluyendo ácido 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DMPA,Na), ácido 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DPPA,Na), ácido 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfatídico, sal de sodio (DSPA,Na); fosfocolinas, incluyendo 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfocolina (DLPC), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DMPC), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC); fosfoetanolaminas, incluyendo 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DLPE), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DMPE), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DPPE), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (DSPE); fosfogliceroles, incluyendo 1,2-dilauroil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DLPG, Na), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DMPG, Na), 1,2-dimiristoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de amonio (DMP-sn-1-G,NH₄), 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DPPG,Na), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (DSPG,Na), 1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfo-sn-1-glicerol, sal de sodio (DSP-sn-1G,Na); fosfoserinas, incluyendo 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfo-L-serina, sal de sodio (DPPS,Na); fosfolípidos de cadena mixta, incluyendo 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de sodio (POPG,Na), 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfoglicerol, sal de amonio (POPG,NH₄);
45 lisofosfolípidos, incluyendo 1-palmitoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (P-liso-PC), 1-estearoil-2-liso-sn-glicero-3-fosfocolina (S-liso-PC); fosfolípidos pegilados, incluyendo N-(carbonilmetoxipolietilenglicol 2000)-MPEG-2000-DPPE, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 5000)-MPEG-5000-DSPE, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 5000)-MPEG-5000-DPPE, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 750)-MPEG-750-DSPE, sal de sodio, N-(carbonil-metoxipolietilenglicol 2000)-MPEG-2000-DSPE, sal de sodio.

- 50 En una realización, la cantidad de fosfolípido en las composiciones según la presente invención, en peso basándose en el volumen total de la composición, está dentro de un intervalo de 0,5 a 25 g/l. En determinadas realizaciones, el fosfolípido puede estar presente dentro de un intervalo de 0,7 a 20 g/l, incluyendo de 0,8 a 18 g/l, tal como de 1 a 15 g/l.

- 55 En otras realizaciones específicas, la fuente del emulsionante de fosfolípido es lecitina, tal como lecitina de huevo. Según la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), lecitina es una denominación común que describe una mezcla compleja de acetona-fosfolípidos insolubles, que consiste principalmente en fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol, en combinación con diversas cantidades de otras sustancias tales como triglicéridos, ácidos grasos e hidratos de carbono.

- La lecitina de soja y la lecitina de huevo (incluyendo versiones hidrogenadas de estos compuestos) tienen una larga historia de seguridad en sistemas biológicos, poseen propiedades de emulsificación y solubilización combinadas, y tienden a metabolizarse *in vivo* dando sustancias inocuas más rápidamente que la mayoría de tensioactivos sintéticos. Fosfolípidos/lecitina de soja disponibles comercialmente son los productos Centrophase y Centrelex (Central Soya), Phospholipon (Phospholipid GmbH, Alemania), Lipoid (Lipoid GmbH, Alemania), EPIKURON

(Degussa) y PL90 (Fresenius Kabi, Suecia). En realizaciones específicas, la fuente de fosfolípido es lecitina de huevo.

5 En determinadas realizaciones, la cantidad total de emulsionante, incluido el fosfolípido, en las composiciones está dentro de un intervalo de 0,5 g/l a 48 g/l, específicamente de 0,8 g/l a 42 g/l, en peso basándose en el volumen total de la composición. En determinadas realizaciones, tales como en las que el emulsionante es lecitina de huevo, la cantidad de emulsionante está dentro de un intervalo de 1 g/l a 39 g/l, tal como de 3 g/l a 29 g/l, incluyendo de 3,5 g/l a 27 g/l, incluyendo de 4 g/l a 26 g/l, especialmente de 10 a 20 g/l tal como de 11 a 15 g/l.

10 Preferiblemente, la emulsión comprende fosfolípidos que comprenden restos de ácidos grasos omega 3, preferiblemente fosfolípidos obtenidos de kril (*Euphausiacea*).

15 En una realización, el emulsionante es lecitina de huevo que comprende el 60-80% en peso/peso, tal como el 67% en peso/peso de fosfatidilcolina; el 10-20% en peso/peso, tal como el 15% en peso/peso de fosfatidiletanolamina; <= el 3% en peso/peso, tal como el 2% en peso/peso de esfingomielinina; y <= el 3% en peso/peso, tal como el 1% en peso/peso de lisofosfatidilcolina.

20 "Lecitina de huevo PL90" (Fresenius Kabi AB) es un ejemplo de una lecitina de huevo que tiene un contenido en fosfolípidos de este tipo.

Se ha encontrado que residuos de ácidos grasos omega 3 mejoran el efecto de las hormonas durante la terapia y la profilaxis. Por tanto, según una realización particular preferida, la emulsión de aceite en agua comprende fosfolípidos que tienen restos de ácidos grasos omega 3, preferiblemente fosfolípidos obtenidos de kril (*Euphausiacea*).

25 Pueden obtenerse fosfolípidos que comprenden residuos de ácidos grasos omega 3 a partir de kril. Por ejemplo, el aceite de kril puede contener fosfolípidos que contienen ácidos grasos omega 3 en una cantidad de aproximadamente el 20 a aproximadamente el 60%, por ejemplo, desde aproximadamente el 30 hasta aproximadamente el 50%, basándose en el peso del aceite de kril. En una realización a modo de ejemplo, el aceite de kril puede contener triglicéridos que contienen ácidos grasos omega 3 en una cantidad de menos de aproximadamente el 30%, por ejemplo, menos de aproximadamente el 5%, basándose en el peso del aceite de kril. En una realización a modo de ejemplo, el aceite de kril puede estar sustancialmente libre de triglicéridos que contienen ácidos grasos omega 3. Por ejemplo, tanto los fosfolípidos (PL) como los triglicéridos (TG) poseen una estructura principal de 3 carbonos (triacilglicerol) donde determinados grupos funcionales se unen a cada uno de los carbonos, con las posiciones 1, 2 y 3 indicadas como sn1, sn2 y sn3, respectivamente. Las posiciones sn1 y sn2 tanto en PL como en TG pueden contener ácidos grasos de cadena larga, tales como compuestos de 18 carbonos (por ejemplo, ácidos linoleico, alfa-linolénico, oleico y esteárico) y/o ácidos grasos de cadena muy larga que contienen 20 o más carbonos (por ejemplo, ácidos araquidónico, eicosapentaenoico, docosapentaenoico y docosahexaenoico). En los TG, las posición sn3 también está ocupada por los ácidos grasos de cadena larga anteriores, y como tal estos compuestos se conocen como "grasa neutra", mientras que en los PL las posición sn3 está ocupada por ácido fosfórico unido a un alcohol tal como colina, etanolamina, serina, inositol, etc., que altera significativamente la molécula, confiriéndola propiedades tanto hidrófilas como hidrófobas, conocido como compuesto anfífilo. Como parte de la constitución estructural de la membranas biológicas, y que poseen propiedades anfífilas, los PL desempeñan un papel vital en muchos procesos metabólicos.

45 En una realización a modo de ejemplo, una cantidad predeterminada de los fosfolípidos que contienen ácidos grasos omega 3 contienen ácidos grasos omega 3 unidos a las posiciones primera y segunda del fosfolípido, pero no a la posición tercera del fosfolípido. Es decir, una cantidad predeterminada de los fosfolípidos que contienen ácidos grasos omega 3 puede contener un ácido graso omega 3 en la segunda posición (es decir, la posición central) del fosfolípido. Por ejemplo, los fosfolípidos que contienen ácidos grasos omega 3 que contienen ácidos grasos omega 3 unidos a las posiciones primera y segunda del fosfolípido, pero no a la posición tercera del fosfolípido, pueden estar presentes en una cantidad de aproximadamente el 70% a aproximadamente el 80%, por ejemplo, desde aproximadamente el 80% hasta aproximadamente el 95%, basándose en el peso total de los fosfolípidos que contienen ácidos grasos omega 3.

55 Según otro aspecto a modo de ejemplo, se proporciona un método de administración por vía parenteral de la emulsión de aceite en agua, comprendiendo el método la administración por vía parenteral a una persona de una composición que contiene fosfolípidos obtenidos de crustáceos marinos en una emulsión de aceite en agua parenteral que contiene concentraciones protectoras del antioxidante que se produce de manera natural, astaxantina, contra la descomposición u oxidación químicas de los ácidos grasos omega 3 insaturados presentes. La oxidación del ácido graso omega 3 poliinsaturado conduce a la formación de especies reactivas del oxígeno que pueden ser perjudiciales tras la administración intravenosa. Por tanto, una emulsión de aceite en agua rica en ácidos grasos omega 3 específica necesita protección contra la descomposición química. La astaxantina, encontrada en el aceite de kril, puede proporcionar protección única contra la oxidación de los ácidos grasos omega 3 similar a la presencia de alfa-tocoferol en el aceite de soja que protege contra la oxidación de los ácidos grasos omega 6. Como tal, al igual que los fosfolípidos de origen marino encontrados en el aceite de kril contienen una alta concentración de n3-AG que pueden potenciar de manera única la estabilidad física de la emulsión, la presencia de astaxantina en el

aceite de kril también puede potenciar de manera única la estabilidad química de la emulsión de aceite en agua. Al igual que los aspectos a modo de ejemplo del aceite de kril como tensioactivo primario, o cotensioactivo con fosfolípidos de huevo, puede ser que la astaxantina sea el antioxidante primario, o coantioxidante con alfa-tocoferol.

5 Una realización alternativa adicional descrita en el presente documento es una emulsión de aceite en agua que contiene hormonas para administración parenteral que comprende:

a) progestágeno y/o estrógeno tal como se definió anteriormente; y

10 b) un fosfolípido obtenido a partir de crustáceos marinos tal como se definió anteriormente.

En una realización, la emulsión comprende no más del 1,5% en peso/peso, no más del 1,2% en peso/peso, o no más del 0,8% en peso/peso, incluyendo no más del 0,4% en peso/peso, de 15-hidroxiestearato de polietilenglicol. En otra realización, las composiciones comprenden no más del 1,5% en peso/peso, no más del 1,2% en peso/peso, o no más del 0,8% en peso/peso, incluyendo no más del 0,4% en peso/peso, de éster de polietilenglicol y/o polietileno-propilenglicol.

Según algunas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden progestágeno y/o estrógeno, en las que dichas composiciones están en forma de una emulsión que comprende una fase acuosa, una fase oleosa y un tensioactivo.

Medio acuoso

Tal como se indicó anteriormente, la emulsión de aceite en agua de la presente invención comprende además un medio acuoso. "Medio acuoso" o "fase acuosa" se refiere a un líquido que contiene agua. En algunas realizaciones, el medio acuoso es agua y/o una disolución tampón acuosa.

La emulsión de aceite en agua de la invención puede comprender del 70 al 98% en peso, preferiblemente del 70 al 90% en peso.

En algunas realizaciones, la emulsión puede comprender de 0 a 4 mM de un agente de tamponamiento fisiológicamente compatible.

En algunas realizaciones, las emulsiones de aceite en agua según la presente invención comprenden opcionalmente un cotensioactivo. Los cotensioactivos adecuados para su uso en las emulsiones de la presente invención son los que evitan la floculación y/o coalescencia de la emulsión lipídica. Los cotensioactivos a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a colesterol, ácido oleico, oleato, Tween 80 (monooleato de PEG-sorbitano), HCO-60, Solutol H15 (hidroxiestearato de polioxietileno-660), PEG-400 (polietilenglicol), Pluronic F68 (BASF), Cremophor EL (ricinoleato de polioxietileno-35), o la sal de un ácido biliar, tal como ácido desoxicólico. En otras realizaciones, el cotensioactivo se selecciona del grupo que consiste en ácidos grasos C12-C22, sales de los mismos, y/o mezclas de los mismos, tal como en ácidos grasos C16-C20, sales de los mismos, y/o mezclas de los mismos, o en ácidos grasos C18, sales de los mismos, y/o mezclas de los mismos. En realizaciones específicas, el ácido graso es monoinsaturado.

En algunas realizaciones, el cotensioactivo puede estar presente en las composiciones en una cantidad (peso/vol.) mayor de o igual al 0,005%, mayor de o igual al 0,01%, o mayor de o igual al 0,02%. Según cualquiera de estas realizaciones, el cotensioactivo puede estar presente en una cantidad (peso/vol.) menor de o igual al 4%, menor de o igual al 1%, o menor de o igual al 0,04%.

En realizaciones específicas, el cotensioactivo se selecciona del grupo que consiste en ácidos grasos de cadena larga, tales como ácido palmítico, ácido oleico o ácido esteárico, o las sales alcalinas de los mismos. El oleato y/o ácido oleico, particularmente oleato de sodio, son cotensioactivos particularmente adecuados.

En determinadas realizaciones en las que el cotensioactivo es oleato y/o ácido oleico, el cotensioactivo puede estar presente en una cantidad (peso/vol.) igual a o mayor del 0,005%, igual a o mayor del 0,01%, o igual a o mayor del 0,02%. Según cualquiera de estas realizaciones, el cotensioactivo puede estar presente en una cantidad (peso/vol.) menor de o igual al 0,5%, menor de o igual al 0,2%, menor de o igual al 0,1%, o menor de o igual al 0,05%. En realizaciones específicas, el cotensioactivo es oleato de sodio y está presente en una cantidad del 0,03% de peso/vol. (0,3 g/l). Las emulsiones descritas en el presente documento pueden ser adecuadas para infusión parenteral, tal como inyección intravenosa o infusión intravenosa, durante periodos prolongados. Una duración típica del tratamiento puede ser, por ejemplo, de 3-7 días. En realizaciones específicas, la concentración de determinados cotensioactivos se mantiene, por tanto, a un mínimo para prevenir efectos secundarios tales como irritación, inhibición del citocromo P450, etc. En realizaciones específicas, Pluronic F68 (poli(etilenglicol)-13-poli(propilenglicol-copropilenglicol) está presente en una cantidad de menos del 0,7% (peso/peso), o menos del 0,5% (peso/peso). En otras realizaciones específicas, Solutol-HS (hidroxiestearato de Macrogol-15) está presente en una cantidad de menos del 1,2% (peso/peso), o menos del 1% (peso/peso).

Agente osmótico

La emulsión de aceite en agua según la invención puede comprender un agente osmótico y/o un modulador de la tonicidad. Tales composiciones pueden tener una osmolalidad en el intervalo de 200-1000 mOsm/kg.

5 Según realizaciones específicas de la invención, las emulsiones pueden ser isotónicas e isosmóticas. Las composiciones pueden tener una osmolalidad de 220-600 mOsm/kg, o 230-360 mOsm/kg.

10 Los agentes osmóticos y/o moduladores de la tonicidad adecuados incluyen cloruro de potasio o sodio, trihalosa, sacarosa, sorbitol, glicerol, glucosa, xilitol, manitol, polietilenglicol, propilenglicol, albúmina, aminoácido y mezclas de los mismos.

15 En determinadas realizaciones, una osmolalidad de 270 a 330 mOsm/kg, tal como de 280 a 300 mOsm/kg, se consigue con un agente que también aumenta la presión osmótica, tal como glicerol, dextrosa, lactosa, sorbitol o sacarosa.

En una realización, el agente osmótico es un poliol fisiológicamente aceptable, tal como glicerol, sorbitol o xilitol. En una realización específica, el agente osmótico es glicerol.

20 El agente osmótico y/o agente regulador de la tonicidad se usa generalmente en una cantidad que no tiene efectos biológicos adversos, pero que es suficiente para proporcionar composiciones isosmóticas y/o isotónicas. Cuando el glicerol es el agente osmótico, el glicerol puede estar presente en el intervalo del 2 al 5% (peso/vol.), tal como del 2,1% al 2,9% (peso/vol.), incluyendo del 2,3% al 2,7%. En realizaciones específicas, las emulsiones de la presente invención comprenden glicerol al 2,5% (25 g/l).

25 Agente regulador del pH

30 En algunas realizaciones, las emulsiones según la presente invención tienen un pH dentro del intervalo de pH 6,0 a pH 9,0, tal como de pH 6,5 a pH 8,5, incluyendo de pH 7,0 a 8,0. El pH de las composiciones puede ajustarse mediante métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, a través del uso de una base adecuada que neutraliza la carga negativa en los ácidos grasos, a través del uso de un tampón adecuado, o una combinación de los mismos. Una variedad de bases y tampones es adecuada para su uso con las emulsiones de la presente invención. Un experto en la técnica apreciará que la adición de tampón a la emulsión afectará no solamente al pH final, sino también a la fuerza iónica de la emulsión. Los tampones de fuerza iónica alta pueden tener un impacto negativo en el potencial zeta de la emulsión y, por tanto, no son deseables. En realizaciones específicas, el pH se ajusta al valor deseado mediante la adición de hidróxido de sodio 1 N.

Aditivos opcionales

40 La emulsión según la presente invención comprende opcionalmente uno o más aditivos farmacéuticamente aceptables, tales como agentes de unión, quelantes y complejantes, conservantes (incluyendo agentes antimicrobianos y antioxidantes), agentes modificadores de la viscosidad y otros materiales biocompatibles o agentes terapéuticos.

45 Razones de los componentes de la composición

Aunque anteriormente se expusieron cantidades a modo de ejemplo de diferentes componentes que pueden incluirse en las composiciones de la invención, otros aspectos de la invención se refieren a razones de los componentes específicos, tal como se comenta a continuación.

50 Emulsionante (fosfolípido): Aceite

Se encontró que cantidades en exceso de fosfolípido en emulsiones de aceite en agua pueden conducir a un aumento en los productos de degradación de fosfolípidos tras someter a autoclave y/o almacenamiento, provocando una caída en el pH, que a su vez tiene un impacto negativo en la estabilidad de la emulsión.

60 En una realización preferida, tal como en la que el emulsionante es un fosfolípido, las emulsiones comprenden el emulsionante en una cantidad (expresada como el % en peso/peso del componente oleoso total) dentro del intervalo del 6,8 al 43%, tal como del 8,4 al 42,5%, incluyendo del 12-26%, tal como del 14-25%, incluyendo del 15 al 22%. En una realización específica, el emulsionante es un fosfolípido y está presente en una cantidad del 16-18% (peso/peso) del aceite.

65 En realizaciones adicionales preferidas, las emulsiones de aceite en agua comprenden fosfolípido en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, mayor de o igual al 6,8%, mayor de o igual al 8,4%, mayor de o igual al 12%, mayor de o igual al 14%, o mayor de o igual al 15%. En algunas realizaciones, las composiciones comprenden fosfolípido en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, menor de o igual al 43%,

menor de o igual al 42,5%, menor de o igual al 26%, menor de o igual al 25%, o menor de o igual al 22%.

En otra realización preferida de la presente invención, tal como en la que la fuente de fosfolípido es lecitina, las composiciones comprenden lecitina en una cantidad dentro del intervalo del 3 al 20% del aceite (peso/peso), tal como del 4 al 18% del aceite (peso/peso), incluyendo del 6-16% del aceite (peso/peso), tal como del 8-14% del aceite (peso/peso). En una realización específica, el emulsionante es lecitina de huevo y está presente en una cantidad del 19-21% (peso/peso) del aceite.

En algunas realizaciones, las emulsiones de la presente invención comprenden lecitina, tal como lecitina de huevo, en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, mayor de o igual al 8%, mayor de o igual al 10%, mayor de o igual al 13%, mayor de o igual al 15%, o mayor de o igual al 18%. En algunas realizaciones, las composiciones comprenden lecitina, tal como lecitina de huevo, en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, menor de o igual al 50%, menor de o igual al 48%, menor de o igual al 40%, menor de o igual al 33%, o menor de o igual al 31%.

Cotensioactivo: Aceite

Tal como se indicó anteriormente, en determinadas realizaciones de la presente invención, las composiciones comprenden un cotensioactivo, tal como oleato o ácido oleico. En realizaciones específicas, el cotensioactivo puede estar presente en una cantidad expresada como el % en peso/peso del componente oleoso, dentro del intervalo del 0,08 al 2%, tal como del 0,1 al 0,9%, incluyendo del 0,3 al 0,7%. En otra realización, el cotensioactivo está presente en una cantidad mayor del 0,02% en peso/peso de dicho aceite. En una realización específica, el cotensioactivo es oleato o ácido oleico, y está presente en una cantidad del 0,5% del aceite (peso/peso).

En algunas realizaciones, el cotensioactivo está presente en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, mayor de 0,02, mayor de o igual al 0,08%, mayor de o igual al 0,1%, o mayor de o igual al 0,3%. En otras realizaciones, la concentración de cotensioactivo, en una cantidad expresada como el % en peso/peso del aceite, es menor de o igual al 2%, menor de o igual al 0,9%, o menor de o igual al 0,7%.

Cotensioactivo: Emulsionante (fosfolípido)

En una realización preferida de la presente invención, las composiciones comprenden fosfolípido como emulsionante, y un cotensioactivo, tal como oleato. En aspectos específicos de estas realizaciones, el cotensioactivo y el emulsionante pueden estar presentes en una razón de cotensioactivo con respecto a fosfolípido (peso/peso) dentro del intervalo de 1:85 a 1:12, tal como de 1:82 a 1:17, incluyendo de 1:68 a 1:20, tal como de 1:51 a 1:26, incluyendo de 2:85 a 1:34.

En realizaciones preferidas, el cotensioactivo y el fosfolípido están presentes en una razón de cotensioactivo con respecto a fosfolípido (peso/peso) mayor de o igual a 1:85, mayor de o igual a 1:82, mayor de o igual a 1:68, mayor de o igual a 1:51, o mayor de o igual a 2:85. En algunas realizaciones, el cotensioactivo y el fosfolípido están presentes en una razón de cotensioactivo con respecto a fosfolípido (peso/peso) menor de o igual a 1:12, menor de o igual a 1:17, menor de o igual a 1:20, menor de o igual a 1:26, o menor de o igual a 1:34. En otra realización preferida de la presente invención, las composiciones comprenden lecitina de huevo como emulsionante y un cotensioactivo, tal como oleato. En aspectos específicos de estas realizaciones, el cotensioactivo y el emulsionante pueden estar presentes en una razón de cotensioactivo con respecto a lecitina (peso/peso) dentro del intervalo de 1:100 a 1:15, tal como de 1:80 a 1:20, incluyendo de 1:70 a 3:70, tal como de 1:60 a 1:30, incluyendo de 1:50 a 1:40.

En realizaciones específicas, el cotensioactivo y la lecitina están presentes en una razón de cotensioactivo con respecto a lecitina (peso/peso) mayor de o igual a 1:100, mayor de o igual a 1:80, mayor de o igual a 1:70, mayor de o igual a 1:60, o mayor de o igual a 1:50. En algunas realizaciones, el cotensioactivo y la lecitina están presentes en una razón (peso/peso) menor de o igual a 1:15, menor de o igual a 1:20, menor de o igual a 3:70, menor de o igual a 1:30, o menor de o igual a 1:40.

En una realización específica en la que el cotensioactivo es oleato y el emulsionante es lecitina de huevo, la razón de cotensioactivo con respecto a emulsionante (peso/peso) está dentro del intervalo de 1:45 a 1:20, tal como de 1:40 a 1:25.

Envase

La emulsión de aceite en agua de la presente invención puede proporcionarse como composiciones listas para usar. "Listo para usar" tal como se usa en el presente documento significa que no se requiere formulación adicional, tal como dilución o mezclado entre sí junto de múltiples componentes.

La emulsión de aceite en agua de la presente invención puede proporcionarse en un envase sellado. El envase debe ser compatible para su uso con formulaciones lipídicas y progestágenos y/o estrógeno. Los ejemplos de materiales menos adecuados para el envasado de formulaciones oleosas incluyen PVC y DEHP. Los envases adecuados que

son compatibles con formulaciones oleosas incluyen pero no se limitan a bolsas a base de polipropileno y frascos de vidrio. El vidrio convencional es un material de envasado adecuado para las composiciones de la presente invención. En realizaciones específicas, la emulsión se envasa en un recipiente sellado. El recipiente puede estar tener una envoltura externa para proporcionar protección del entorno físico. En una realización, la composición se
 5 envasa en un recipiente sellado que tiene un volumen de 250 ml. En una realización, la emulsión de aceite en agua se envasa en un recipiente sellado bajo un espacio de cabeza de gas inerte.

En algunas realizaciones, las composiciones se envasan en recipientes inertes. En algunas realizaciones, los recipientes inertes presentan oclusión a la luz. En otras realizaciones, el recipiente comprende una pared de doble
 10 capa y, en realizaciones más específicas, el área entre las dos capas se llena con un gas inerte con el fin de evitar la oxidación. Para almacenamiento prolongado, el material de envasado previene ventajosamente la difusión de oxígeno desde el aire ambiental hacia las composiciones de la invención, para prevenir la formación de agentes degradantes de oxígeno dentro de las composiciones.

En algunas realizaciones, la composición se envasa en una dosis unitaria. Una dosis unitaria puede proporcionar suficiente composición para la administración de una dosis en bolo de progestágeno y/o estrógeno a un sujeto, o para la administración de la composición a lo largo de un periodo de tiempo predeterminado tal como la primera hora, las primeras 2 horas, las primeras 4 horas, etc., de tratamiento. La dosis unitaria permite una administración rápida y conveniente de la composición en situaciones de urgencia, por ejemplo, por paramédicos en una
 15 ambulancia, o por profesionales de primeros auxilios/médicos en el lugar en el que se produce una lesión/acontecimiento. Ejemplos no limitativos de formas de dosis unitarias son inyecciones, jeringas precargadas, viales de vidrio y/o bolsas selladas.

En algunas realizaciones, la composición se envasa dentro de un dispositivo similar a un dispositivo de bomba de insulina, que se usa para administrar una terapia de infusión continua, o en un cartucho diseñado para su uso con un dispositivo de este tipo. Bombas de insulina a modo de ejemplo son las comercializadas por MiniMed y Disetronic. Tales bombas pueden comprender, por ejemplo, una cánula, un cartucho o depósito de bomba en el que se almacena la composición, una bomba que puede hacerse funcionar por baterías, y medios para permitir que el usuario controle la cantidad exacta de principio activo que se está administrando, tal como por ejemplo, un chip
 25 informático.

Ejemplo específico

En una realización específica, la emulsión de la presente invención comprende:

- 35 a) progesterona en una cantidad que oscila entre 1,0 y 2,0 g/l;
- b) de 100 a 300 g/l, basándose en la emulsión de aceite en agua, de un componente oleoso que comprende:
- 40 i) al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso de dichos ácidos grasos, y
- 45 ii) del 10 al 50% en peso de MCT, basándose en el peso total del componente oleoso;
- c) de 4 a 20 g/l de un fosfolípido, preferiblemente de 8 a 20 g/l de un fosfolípido; y
- 50 d) de 10 a 50 g/l de glicerol.

En una realización específica, la emulsión de la presente invención comprende:

- 55 a) estradiol en una cantidad que oscila entre 0,05 y 1,0 g/l y progesterona en una cantidad que oscila entre 1,0 y 2,0 g/l;
- b) de 100 a 300 g/l, basándose en la emulsión de aceite en agua, de un componente oleoso que comprende:
- 60 i) al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso de dichos ácidos grasos, y
- 65 ii) del 10 al 50% en peso de MCT, basándose en el peso total del componente oleoso;

- c) de 4 a 20 g/l de un fosfolípido, preferiblemente de 8 a 20 g/l de un fosfolípido; y
- d) de 10 a 50 g/l de glicerol.

5 En una realización específica, la emulsión de la presente invención comprende:

- a) estradiol en una cantidad que oscila entre 0,05 y 1,0 g/l;
- b) de 100 a 300 g/l, basándose en la emulsión de aceite en agua, de un componente oleoso que comprende:

10 i) al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso de dichos ácidos grasos, y

15 ii) del 10 al 50% en peso de MCT, basándose en el peso total del componente oleoso;

- c) de 4 a 20 g/l de un fosfolípido, preferiblemente de 8 a 20 g/l de un fosfolípido; y
- d) de 10 a 50 g/l de glicerol.

Propiedades de la emulsión

25 Las composiciones según la presente invención son de aspecto normalmente blanco lechoso, y se presentan como emulsiones visualmente homogéneas.

Distribución del tamaño de partícula de las gotitas de la emulsión

30 Valor de PFAT5

La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) establece el límite para la distribución del tamaño de glóbulos en emulsiones inyectables lipídicas (USP 729-Pharm. Forum. 2005; 3:1448-1453). El límite para glóbulos de grasa de diámetro >5 µm en emulsiones inyectables, expresado como porcentaje de grasa ponderado en volumen >5 µm no excede el 0,05%, o PFAT5 no excede el 0,05% (USP 729-Pharm. Forum. 2005; 3:1448-1453). Las composiciones que tienen un valor de PFAT5 que excede el 0,05% se consideran inseguras para administración intravenosa. El valor de PFAT5 de una emulsión puede estar influido por varios factores, incluyendo el contenido en aceite total de la emulsión, el tipo y la cantidad de fosfolípido, la elección de cotensioactivo, la razón de cotensioactivo con respecto a aceite, y la estabilidad de las gotitas de la emulsión frente a la coalescencia y/o la floculación.

40 En realizaciones específicas, las composiciones según la presente invención tienen un valor de PFAT5 menor de o igual al 0,05%, tal como menor de o igual al 0,04%, incluyendo menor de o igual al 0,02%, tal como menor de o igual al 0,01%.

45 En una realización, el 100% de las gotitas de la emulsión de una composición de la presente invención son menores de o iguales a 5 µm de diámetro, y al menos el 98% de las gotitas, incluyendo el 99% de las gotitas, son menores de o iguales a 1,5 µm de diámetro. La distribución del tamaño de partícula de las gotitas mayor de 1 µm de diámetro se determina mediante un contador Coulter (Coulter Multisizer III).

50 PCS

En una realización, las gotitas menores de o iguales a 1 µm de diámetro tienen un promedio z mediante PCS máximo de 350 nm, y/o un valor de polidispersión mediante PCS de no más de 0,25. En una realización específica, las gotitas menores de o iguales a 1 µm de diámetro tienen un promedio z máximo de 250 nm, y/o un valor de polidispersión de no más de 0,20. En una realización incluso más específica, las gotitas menores de o iguales a 1 µm de tamaño tienen un promedio z máximo de 220 nm, y/o un valor de polidispersión de no más de 0,15.

Mediana del tamaño de las gotitas

60 El tamaño de gotitas de la emulsión es el parámetro clave que determina la cinética de desestabilización de la emulsión, puesto que el tamaño de las gotitas influye directamente en la velocidad de fenómenos tales como, coalescencia, flotación, floculación, maduración de Ostwald y por último, separación de fases. Por tanto, el tamaño de las gotitas de la emulsión es indicativo de la estabilidad de la emulsión. Múltiples parámetros influyen en el tamaño de las gotitas de la emulsión, incluyendo, por ejemplo, el tipo de aceite, el tipo de tensioactivo y

65 cotensioactivo, la presencia de principios activos, la cantidad de aceite, las razones de aceite con respecto a

5 tensioactivo y de aceite con respecto a cotensioactivo. En una realización específica, las composiciones según la presente invención mantienen una mediana de diámetro basado en volumen, o $D[4,3]$, ≤ 300 nm, tal como ≤ 230 nm, incluyendo aproximadamente ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluyendo aproximadamente ≤ 180 nm, tras someter a autoclave a 121°C durante 15 min, y/o tras almacenamiento a 60°C durante al menos 3 semanas, incluyendo 4 semanas.

Tamaño medio de las gotitas

10 En una realización, las partículas de gotitas de la emulsión de las composiciones según la presente invención tienen un diámetro medio basado en volumen, o $d(0,5)$ ≤ 320 nm, tal como ≤ 250 nm, incluyendo ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluyendo ≤ 180 nm. Preferiblemente, las partículas de gotitas oscilan entre 240 y 320 nm.

15 En una realización específica, las composiciones según la presente invención mantienen un diámetro medio basado en volumen, o $d(0,5)$ ≤ 300 nm, tal como ≤ 250 nm, incluyendo ≤ 200 nm, tal como ≤ 185 nm, incluyendo ≤ 180 nm, tras someter a autoclave a 121°C durante 15 min, y/o tras almacenamiento a 60°C durante al menos 3 semanas, incluyendo 4 semanas.

Potencial zeta

20 El potencial zeta se refiere a la estabilidad de la emulsión. Las emulsiones con un alto potencial zeta se estabilizan eléctricamente mientras que aquellas con bajos potenciales zeta tienden a coagularse o flocular. El potencial zeta de las emulsiones está influido, por ejemplo, por la elección y la cantidad de tensioactivo y cotensioactivo, por el pH de las emulsiones, así como por la fuerza iónica de la disolución acuosa.

25 En una realización, las composiciones de la presente invención tienen un potencial zeta dentro del intervalo de -30 mV a -70 mV, tal como de -40 mV a -65 mV, incluyendo de -51 mV a -60 mV. Además, el potencial zeta de las composiciones de emulsión de la presente invención puede ser de -30 mV, -35 mV, -40 mV, -45 mV, -50 mV, -55 mV, -60 mV, -65 mV o -70 mV o mayor.

30 Materia particulada

35 En determinadas realizaciones, las emulsiones de la presente invención están libres de sólidos cristalinos a temperatura ambiental (por ejemplo, a una o más temperaturas seleccionadas de 4°C , desde 2°C hasta 8°C o desde 20°C hasta 25°C). En realizaciones específicas, las composiciones de emulsión de la presente invención cumplen los criterios para el tamaño y el recuento de materia particulada en líquidos para inyección (USP 788, método 2-Prueba de recuento de partículas microscópicas). Por ejemplo, las composiciones pueden contener 0-12 partículas por ml iguales a o mayores de $10\ \mu\text{m}$ y 0-2 partículas por ml iguales a o mayores de $25\ \mu\text{m}$.

Estabilidad de las emulsiones

40 Esterilidad

45 En realizaciones específicas, las emulsiones según la presente invención son estériles. Tal como se usa en el presente documento "estéril" se refiere a composiciones que cumplen los requisitos del capítulo de la USP <71>. En realizaciones específicas las composiciones cumplen los requisitos del capítulo de la USP <85> "Prueba de endotoxinas bacterianas", y opcionalmente de manera adicional, cumplen los requisitos del capítulo de la USP <151> "Prueba de pirógenos".

50 En realizaciones específicas, las emulsiones de la presente invención logran solubilidad de progesterona y/o estrógeno mejorada, mientras mantienen o mejoran la estabilidad química y/o estabilidad física de las emulsiones. En realizaciones específicas, las composiciones pueden esterilizarse por calor sometiéndolas a autoclave a 121°C durante 15 minutos sin comprometer la integridad física o química de las emulsiones. La esterilización mediante autoclave es beneficiosa no sólo en cuanto a la seguridad microbiológica, sino que también es más rentable en comparación, por ejemplo, con la esterilización por filtración.

55 Además, en realizaciones específicas, las emulsiones presentan ventajas de seguridad con respecto a la técnica anterior, tal como por ejemplo, (a) las composiciones cumplen los criterios para el tamaño y el recuento de partículas en líquidos para inyección (USP 788, método 2) y/o comprenden un menor nivel de cristales de progestágeno y/o estrógeno, (b) las composiciones tienen un valor de PFAT5 bajo (tal como se comentó en más detalle anteriormente), (c) las composiciones contienen niveles menores de impurezas químicas, (d) las composiciones pueden someterse a autoclave usando el método de referencia para la seguridad microbiológica, y/o (e) las composiciones no comprenden alcohol ni disolventes orgánicos potencialmente tóxicos.

65 Como resultado de una o más de las ventajas descritas anteriormente de las composiciones descritas en el presente documento, las emulsiones proporcionan una disponibilidad mejorada del progestágeno contenido en las mismas (por ejemplo, buena farmacocinética y biodisponibilidad, tal como puede reflejarse en los niveles séricos y/o en la

concentración plasmática de hormonas), y la administración de las emulsiones proporciona uniformidad mejorada en la dosificación del paciente, en relación con composiciones de la técnica anterior.

5 Finalmente, las composiciones de emulsión según la presente invención además de ser convenientes y seguras de usar, se proporcionan ventajosamente en forma estéril, lista para usar, teniendo un término de caducidad 1 ó 2 años a temperatura ambiente.

Proceso de fabricación

10 Una realización adicional de la presente invención es un proceso para la preparación de la emulsión de aceite en agua de la invención.

El proceso comprende las etapas de:

15 a) disolver progestágeno y/o estrógeno en una fase oleosa que comprende triglicéridos de aceite de pescado, en la que los triglicéridos de aceite de pescado consisten en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 60% en peso de dichos ácidos grasos;

20 b) emulsionar la fase oleosa en la fase acuosa, preferiblemente en presencia de un emulsionante.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método de fabricación de las composiciones de emulsión de aceite en agua tal como se definió anteriormente en el presente documento, comprendiendo dicho método las etapas de:

25 a) combinar agua y fosfolípido, y opcionalmente un agente osmótico para producir una composición acuosa;

30 b) combinar progestágeno y/o estrógeno y aceite para producir una composición oleosa; y

c) combinar la composición acuosa y la composición oleosa seguido por homogeneización para formar una emulsión de aceite en agua homogénea.

35 Según una realización específica, la composición acuosa se homogeneiza para producir una suspensión homogénea, antes de que dicha composición acuosa se combine con la composición oleosa. En otra realización ventajosa, el progestágeno y/o estrógeno se añade a aceite que tiene una temperatura de al menos 40°C para facilitar la dilución del progestágeno y/o estrógeno. En otras realizaciones específicas, la composición oleosa se filtra antes de combinarse con la composición acuosa.

40 En algunas realizaciones muy específicas, los métodos de fabricación comprenden las siguientes etapas:

A) disolver un agente osmótico opcional en un medio acuoso y agitar;

45 B) añadir emulsionante, tal como lecitina de huevo, y agitar;

C) añadir opcionalmente un cotensioactivo y opcionalmente un agente regulador del pH y mezclar;

D) disolver progestágeno y/o estrógeno en aceite para formar una fase oleosa;

50 E) filtrar la fase oleosa, seguido por la adición de la fase oleosa filtrada a la fase acuosa, y mezclar;

F) homogeneización para formar una emulsión homogénea;

G) adición opcional de agua;

55 H) adición opcional de suficiente NaOH 1 N para ajustar el pH a pH 8,0-8,8;

I) adición opcional de suficiente medio acuoso para lograr el volumen final.

60 En una realización específica, se realiza la homogeneización, a más de o igual a 35 MPa (350 bar) o más de o igual a 37 MPa (370 bar). En realizaciones específicas, los métodos de fabricación de las emulsiones implican las etapas de disolver la lecitina de huevo en medio acuoso (en vez de en aceite), añadir la fase oleosa a la fase acuosa (en vez de viceversa), y homogeneizar a más de o igual a 35 MPa (350 bar). Se cree que estas etapas dan como resultado emulsiones con propiedades ventajosas en cuanto al tamaño de partícula y la estabilidad de la emulsión.

65 En otras realizaciones específicas, la emulsión se envasa en recipientes sellados, y se esteriliza, tal como mediante

calentamiento hasta al menos 121°C (por ejemplo, de 121°C a 123°C) durante un mínimo de 15 min de tiempo de retención. El programa del autoclave puede ser un ciclo rotatorio.

En otras realizaciones muy específicas, los métodos de fabricación comprenden las siguientes etapas:

- 5
- A) disolver un agente osmótico en un medio acuoso y agitar;
 - B) añadir fosfolípido, específicamente lecitina de huevo y agitar;
 - 10 C) añadir opcionalmente un cotensioactivo y un agente regulador del pH y mezclar;
 - D) disolver progesterona y/o estrógeno en los triglicéridos de aceite de pescado para formar una fase oleosa;
 - 15 E) filtrar la fase oleosa, seguido por adición de la fase oleosa filtrada a la fase acuosa, y mezclar;
 - F) homogeneización para formar una emulsión homogénea;
 - G) adición opcional de agua;
 - 20 H) adición opcional de suficiente NaOH 1 N para ajustar el pH a pH 8,0-8,8;
 - I) adición opcional de suficiente medio acuoso para lograr el volumen final.

25 A continuación se proporciona un ejemplo detallado de un método de fabricación. El experto en la técnica comprenderá fácilmente que pueden realizarse diversas modificaciones y variaciones, y estarían todavía dentro del alcance de la invención.

Método de tratamiento

30 Una realización adicional de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende o consiste en la emulsión de aceite en agua de la presente invención.

Preferiblemente, la composición farmacéutica de la presente invención es para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras accidentes cerebrovasculares y/o traumatismos.

35 Según una realización adicional preferida, la composición farmacéutica de la presente invención es para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras conmoción cerebral o para su uso en el tratamiento o la profilaxis de acontecimientos traumáticos.

40 Las emulsiones descritas en el presente documento pueden administrarse por vía parenteral, tal como por vía intravenosa o intraarterial, a sujetos para uso terapéutico o profiláctico. En realizaciones específicas, el sujeto es un mamífero, tal como un ser humano.

45 Las emulsiones descritas en el presente documento tienen propiedades neuroprotectoras y/o neuroregenerativas. Las composiciones son, por tanto, útiles en el tratamiento o la prevención de trastornos o estados del sistema nervioso. Los trastornos y estados a modo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, trastornos o estados del sistema nervioso central (SNC), lesión de la médula espinal, traumatismo craneoencefálico, traumatismo craneal leve, incluyendo conmoción caracterizada por una pérdida temporal de la función cerebral, lesión cerebral pediátrica, trastornos degenerativos del SNC tales como enfermedad de Parkinson, demencia, incluyendo enfermedad de Alzheimer, estados desmielinizantes tales como esclerosis múltiple y neuropatología periférica crónica, diabética.

50 Otros trastornos y estados a modo de ejemplo incluyen estados neurológicos isquémicos, tales como lesión isquémica del SNC, accidente cerebrovascular, incluyendo accidente cerebrovascular isquémico, accidente cerebrovascular hemorrágico y accidentes isquémicos transitorios, y alteraciones neurocognitivas atribuidas a derivación cardiopulmonar durante cirugía cardíaca, por ejemplo síndrome tras perfusión. Los ejemplos adicionales incluyen afasia, trastornos del sueño, y trastornos de ansiedad tales como trastorno de estrés postraumático.

55 Las composiciones también son útiles para proporcionar alivio de los síntomas asociados con los trastornos indicados anteriormente, tales como restablecer la función cognitiva, restablecer los patrones del sueño, normalizar los estados del estado de ánimo, etc. Las composiciones farmacéuticas también son útiles para tratar trastornos de estrés postraumático.

60 Según una realización, la presente invención proporciona métodos de tratamiento de un sujeto mamífero con una lesión traumática del SNC, tal como un traumatismo craneoencefálico. Métodos a modo de ejemplo comprenden tratamiento de un TBI en un sujeto mamífero administrando al sujeto que lo necesita una composición farmacéutica según la presente invención, de modo que se administra una concentración terapéuticamente eficaz de

5 progestágeno y/o estrógeno. En una realización específica, el sujeto mamífero es un ser humano. Por ejemplo, los métodos de la presente invención pueden comprender administración por vía parenteral de las composiciones farmacéuticas que comprenden progestágeno y/o estradiol de la presente invención a un sujeto que tiene una lesión traumática del SNC, tal como un TBI. Según el método de la presente invención, la composición farmacéutica se usa para promover una respuesta terapéutica positiva con respecto a la lesión traumática del sistema nervioso central.

10 El traumatismo craneoencefálico es una lesión física del tejido cerebral que altera temporal o permanentemente la función cerebral. El diagnóstico se sospecha clínicamente y puede confirmarse mediante obtención de imágenes (principalmente TAC). Las manifestaciones clínicas varían notablemente en cuanto a la gravedad y las consecuencias. Las lesiones se clasifican con frecuencia como abiertas o cerradas. Las lesiones abiertas implican la penetración del cuero cabelludo y el cráneo. Las lesiones cerradas se producen normalmente cuando la cabeza recibe un impacto o se golpea con un objeto, o se sacude violentamente, provocando una rápida aceleración y desaceleración cerebrales.

15 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse para tratar un TBI, incluyendo contusiones (por ejemplo, lesiones cerradas), así como traumatismos penetrantes. Por "tratamiento" se pretende indicar cualquier mejora en el sujeto que tiene la lesión traumática del SNC, incluyendo tanto recuperación morfológica mejorada (es decir, viabilidad de tejido potenciada) como/o recuperación conductual. La mejora puede caracterizarse como un aumento en o bien la velocidad y/o bien el grado de recuperación conductual y anatómica tras la lesión traumática del SNC. Por consiguiente, una "respuesta terapéutica positiva" incluye tanto una respuesta completa como una respuesta parcial. Diversos métodos para determinar si se ha producido una respuesta terapéutica completa o parcial se comentan en detalle en las solicitudes de patente WO2006/102644, WO2006102596 y WO2008/039898.

25 Por "cantidad terapéuticamente eficaz" quiere decirse una cantidad de progestágeno y/o estrógeno que es suficiente para producir un efecto terapéutico. Por tanto, en algunas realizaciones, la cantidad de un progestágeno y/o estrógeno en una unidad de dosis administrada según la presente invención es eficaz en el tratamiento o la prevención del daño neuronal que sigue a una lesión traumática del SNC y por tanto, produce un efecto neuroprotector. La neurodegeneración es la pérdida progresiva de neuronas en el sistema nervioso central. Tal como se usa en el presente documento, "neuroprotección" es la detención y/o inversión del avance de la neurodegeneración tras una lesión traumática del SNC. La cantidad terapéuticamente eficaz dependerá de muchos factores incluyendo, por ejemplo, la actividad específica del progestágeno y/o estrógeno, la gravedad y el patrón de la lesión traumática, el daño neuronal resultante, el grado de respuesta del paciente, el peso del paciente, junto con otra variabilidad dentro de la persona, el modo y/o el método de administración, y la composición farmacéutica usada.

35 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse usando cualquier método aceptable conocido en la técnica, incluyendo inyección intravenosa (i.v.), inyección intramuscular (i.m.) o inyección subcutánea (s.c.). En realizaciones específicas de la invención, la composición se administra por vía intravenosa, tal como mediante inyección i.v. Cuando se administra por vía intravenosa, la composición puede administrarse mediante infusión a lo largo de un periodo de desde 1 hasta 144 horas.

45 Puede administrarse progestágeno y/o estrógeno una o varias veces al día. La duración del tratamiento puede ser de una vez al día durante un periodo de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días o más. La dosis diaria puede administrarse o bien mediante una dosis única en forma de una unidad de dosificación individual o varias unidades de dosificación más pequeñas o bien mediante administración múltiple de dosificaciones subdivididas a determinados intervalos. Pueden administrarse unidades de dosificación posteriores en cualquier momento tras la administración inicial de modo que se logra un efecto terapéutico. Por ejemplo, pueden administrarse unidades de dosificación adicionales para proteger al sujeto de la onda secundaria de edema que puede producirse durante los primeros varios días tras la lesión. En una realización específica, la primera unidad de dosificación se administra no más tarde de 8 horas tras la lesión.

55 En realizaciones específicas de la invención, el progestágeno y/o estrógeno se administra en una pauta posológica constante. Por "pauta posológica constante" quiere decirse que el progestágeno y/o estrógeno se administra en una dosis de infusión por hora total constante de progestágeno y/o estrógeno durante el transcurso del tratamiento.

En realizaciones adicionales de la presente invención, puede administrarse al menos un agente neuroprotector adicional en combinación con los progestágenos y/o estrógeno (o bien como parte de la misma composición o bien en una composición diferente) para potenciar la neuroprotección tras una lesión traumática del SNC.

60 Habiendo descrito ahora en general esta invención, la misma se entenderá mejor en referencia a determinados ejemplos específicos que se incluyen en el presente documento con fines de ilustración únicamente, y no se pretende que sean limitativos de la invención.

65 Ejemplos

Procedimiento general para la preparación de una emulsión de aceite que contiene hormonas

- Tras mezclar glicerol y una parte del agua, se dispersan el emulsionante (lecitina de huevo) y el coemulsionante oleato de sodio mediante el homogeneizador celular Ultra Turrax® (disolución I). En paralelo, se prepara la fase oleosa, opcional con tocoferol, y se disuelven estradiol y progesterona a 70°C bajo atmósfera inerte de nitrógeno (disolución II). Se añade la disolución II a la disolución I usando un homogeneizador celular Ultra Turrax seguido por de 4 a 5 ciclos de homogeneización en un homogeneizador de alta presión bajo al menos de 40 MPa (400 bar) a 80 MPa (800 bar) a de 30°C a 70°C. Entonces, se añade el resto del agua y se ajusta el valor de pH de la emulsión de aceite en agua resultante a de 7,5 a 9,0 con hidróxido de sodio posible como disolución.
- 10 Tras introducirse en un recipiente de calidad adecuada, la emulsión se esteriliza por calor mediante métodos conocidos. Se obtiene una emulsión de aceite en agua estéril y estable con gotitas de lípido que tienen un tamaño de gotita de aceite de menos de 0,5 µm y una estabilidad en almacenamiento de al menos 18 meses.

Tabla 1

	cantidad por 1000 ml	cantidad por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
triglicéridos de cadena media	20,0 g	600,0 g
triglicérido de aceite de pescado ¹⁾	180,0 g	5400,0 g
lecitina de huevo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
oleato de sodio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx. 0,06 g	máx. 1,8 g
agua para inyección	hasta 1000 ml	hasta 30,0 l

- 15 ¹⁾ La cantidad de EPA y DHA es del 55,5% en peso, basándose en la cantidad total de ácidos grasos en el triglicérido de aceite de pescado. La razón en peso de EPA con respecto a DHA es de 3:2.

Tabla 2

	cantidad por 1000 ml	cantidad por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
triglicéridos de cadena media	60,0 g	1800,0 g
triglicérido de aceite de pescado ¹⁾	140,0 g	4200,0 g
lecitina de huevo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
oleato de sodio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx. 0,06 g	máx. 1,8 g
agua para inyección	hasta 1000 ml	hasta 30,0 l

- 20 ¹⁾ La cantidad de EPA y DHA es del 55,5% en peso, basándose en la cantidad total de ácidos grasos en el triglicérido de aceite de pescado. La razón en peso de EPA con respecto a DHA es de 3:2.

Tabla 3

	cantidad por 1000 ml	cantidad por 30 l
progesterona	1,500 g	45,00 g
estradiol	0,150 g	4,500 g
triglicéridos de cadena media	100,0 g	3000,0 g
triglicérido de aceite de pescado ¹⁾	100,0 g	3000,0 g

lecitina de huevo	12,00 g	360,0 g
glicerol	25,00 g	750,0 g
oleato de sodio	0,300 g	9,0 g
α-tocoferol	0,200 g	6,0 g
NaOH	máx. 0,06 g	máx. 1,8 g
agua para inyección	hasta 1000 ml	hasta 30,0 l

¹⁾ La cantidad de EPA y DHA es del 55,5% en peso, basándose en la cantidad total de ácidos grasos en el triglicérido de aceite de pescado. La razón en peso de EPA con respecto a DHA es de 3:2.

Experimentos usando un modelo de accidente cerebrovascular

5 Con el fin de determinar los efectos de la emulsión de la invención en el tratamiento de daños neurológicos tras accidente cerebrovascular, se han analizado las emulsiones tal como se refleja en la tabla 4.

Tabla 4

Componentes	Ejemplo 1 (Lipofundin MCT)	Ejemplo 2 (emulsión 5:5)	Ejemplo 3 (emulsión 9:1)
Aceite de soja (LCT)	100 g	--	--
MCT ¹⁾	100 g	100 g	20 g
Triglicéridos de aceite de pescado ²⁾	--	100 g	180 g
Lecitina de huevo	12 g	12 g	12 g
Glicerol	25 g	25 g	25 g
Oleato de sodio	0,3 g	0,3 g	0,3 g
α-tocoferol	0,2 g	0,2 g	0,2 g
NaOH	máx. 0,06 g	máx. 0,06 g	máx. 0,06 g
Agua para inyección	hasta 1000 ml	hasta 1000 ml	hasta 1000 ml

¹⁾ triglicérido de cadena media

²⁾ la cantidad de EPA y DHA es del 55% en peso basándose en el peso total de los ácidos grasos en el triglicérido de aceite de pescado. La razón en peso de EPA con respecto a DHA es de 3:2

15 El modelo de accidente cerebrovascular usado para determinar los efectos de las emulsiones de la invención se describe en J. Dong, B. Mitkari, M. Kipp y C. Beyer Brain, Behavior, and Immunity 25 (2011) 715-726.

Método

20 Animales y procedimiento experimental de oclusión transitoria de la arteria cerebral media (+ MCAO) en ratas Wistar macho normales

25 Se mantuvieron ratas Wistar macho (de aproximadamente 300 g, de 3 meses de edad, Charles River, Alemania) en un entorno libre de patógenos. Los animales se sometieron a un mantenimiento de rutina de la jaula una vez a la semana y a una monitorización microbiológica según las recomendaciones de la Federation of European Laboratory Animal Science Association.

30 El alimento y el agua fueron a voluntad. Los procedimientos de investigación y cuidado de los animales fueron aprobados por la Junta de Revisión para el Cuidado de Sujetos Animales del gobierno del distrito (Nordrhein-Westfalen, Alemania). Se anestesiaron los animales con isoflurano al 5% (Abbott, Ludwigshafen, Alemania), y se mantuvieron con isoflurano al 1,5-2,5% (según el animal individual y la etapa de operación) usando una mascarilla. Tras practicar una incisión en el cuello en la línea media, se expusieron la arteria carótida común izquierda (ACC), la arteria carótida interna (ACI) y la arteria carótida externa (ACE). Posteriormente, se ligaron la ACE proximal y la ACC. Se conservó cuidadosamente el nervio vago en la medida de lo posible. Posteriormente, se introdujo un catéter disponible comercialmente (Asahi PTCA Guide Wire Soft, Abbott Vascular, Alemania) desde la luz de la ACC
35 distal justo antes de la bifurcación en la ACI en la medida en que se observó manualmente una resistencia. Por tanto, se ocluyó el origen de la arteria cerebral media (ACM) por la punta del catéter para obtener una caída en el flujo sanguíneo cerebral (FSC) de >50% en comparación con los niveles iniciales (véase a continuación). Se mantuvo la temperatura corporal a 37-37,5°C con una almohadilla térmica y una lámpara durante todo el procedimiento quirúrgico. Tras una hora, se retiró el catéter y se inició el periodo de reperfusión. Posteriormente, se

ligaron cuidadosamente los vasos expuesto para evitar hemorragias, se cerró la incisión de manera aséptica, y los animales regresaron a sus jaulas. 23 horas más tarde, se anestesiaron las ratas profundamente con isoflurano al 5% y se realizaron tinción tisular, análisis molecular y pruebas de comportamiento animal.

5 Preparación de la emulsión de hormonas y aceite así como su aplicación

Aplicación de emulsiones y toma de muestras de sangre

10 Se aplicaron las emulsiones tal como se describió en la tabla 4 a través de un catéter permanente en la vena yugular 1 y 12 h después del inicio de tMCAO.

Para la toma de muestras de sangre venosa y la aplicación de las emulsiones, se externalizó la vena yugular externa derecha preparando todo el tejido conectivo y la fascia en la región ventral del cuello.

15 Tras una pequeña incisión en la vena, se introdujo la punta del catéter yugular (Alzet, catéter yugular de rata, Cupertino, CA, EE.UU.) aproximadamente 1-1,5 mm de manera distal. Se ligó la vena permanentemente 2 mm en sentido rostral y de manera suelta en sentido distal junto a la incisión sobre el catéter. El catéter permaneció en su sitio hasta el final del experimento (sacrificio tras 24 h).

20 Se practicaron todas las inyecciones con un volumen de 500 µl lentamente durante 3 min usando un sistema de microbomba (Aesculap, Alemania). Para evitar la coagulación de la punta de los catéteres dentro de la vena yugular, se inundó el tubo con heparina altamente diluida (1:1000 en NaCl fisiológico).

Se calentaron todas las disoluciones usadas hasta la temperatura corporal (38°C) antes de la aplicación.

25 Se prepararon hormonas (17β-estradiol y progesterona) disueltas en etanol al 100% como disoluciones madre y se diluyeron adicionalmente en las emulsiones proporcionadas (ejemplos 1 a 3).

La dosificación de esteroides resultante por aplicación fue:

30 Progesterona (P, Sigma-Aldrich, Alemania) 10 mg/kg de peso corporal

17β-Estradiol (E, Sigma-Aldrich, Alemania) 25 µg/kg de peso corporal

35 Se aplicaron emulsiones con o sin hormonas 1 h y 12 h después del inicio de tMCAO.

Además a las emulsiones, se preparó una disolución de cloruro de sodio/etanol que contenía hormona libre de lípidos (NaCl/EtOH E/P). De nuevo, se preparó una disolución madre disolviendo las hormonas en etanol. La dilución adicional de la disolución madre en solución salina (NaCl) dio como resultado el mismo volumen de aplicación (500 µl) y la pauta posológica fue tal como se mostró anteriormente para las emulsiones.

40 Evaluación del flujo sanguíneo cerebral regional (FSCr)

Para garantizar una oclusión de la ACM adecuada, se usó una flujometría láser Doppler (LDF) para medir la perfusión cerebral regional en la ACM durante isquemia cerebral focal.

50 Por tanto, cada animal se sometió a craneotomía para la colocación de una sonda láser Doppler de 2 mm (PeriFlux System 5000, tipo PF 5001, Perimed, Suecia) sobre la duramadre intacta a aproximadamente 3-5 mm posterior al bregma y 4 mm lateral a la línea media. Se tomaron las mediciones de nivel inicial directamente antes de la inserción del catéter en la ACI. Se registró el FSCr a lo largo de la ACM en intervalos de 10 minutos y se calculó la media. En el estudio sólo se incluyeron adicionalmente animales con una reducción del FSCr de al menos el 50% (valor medio) en comparación con el nivel inicial. Los otros animales se excluyeron del estudio, puesto que no podía garantizarse un suministro adecuado de oxígeno/infarto.

55 Análisis de los animales

En general, se realizó todo el análisis de una manera con enmascaramiento único. En este contexto, enmascaramiento único significa que el primer investigador que realizó la preparación de las emulsiones aplicadas, la cirugía de tMCAO y la aplicación de todas las emulsiones era consciente de los fármacos sometidos a prueba. Entonces, esta persona codificó los animales con números. El segundo investigador que manejó las pruebas de comportamiento, análisis de volumen de accidente cerebrovascular, no estaba al tanto y sólo manejó los animales marcados con un número codificado. Entonces, esta persona realizó el análisis y las evaluaciones matemáticas/estadísticas y devolvió un conjunto de datos al primer investigador, que asignó los datos a los animales/tratamientos correspondientes.

65 Medición del volumen de infarto

Los datos del volumen de infarto se expresan como cambios en porcentaje en comparación con el volumen de infarto total en animales con tMCAO desprotegidos que siempre se estableció como el 100%. Esto permite una mejor comparación de los niveles de protección de un vistazo.

5 Para la evaluación exacta del volumen de infarto, se aplicó el método de tinción con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC). Se diseccionaron rápidamente los cerebros y se cortaron dando cortes frontales de 2 mm de grosor usando una matriz cerebral de rata (Alto Brain Matrix, acero inoxidable, corte frontal de rata de 1 mm, 300-600 GM, Harvard-Apparatus). Entonces se incubaron los cortes en una disolución de TTC al 2% (preparado en solución salina) a 37°C durante 15 min. El tejido vivo se tiñe de rojo, mientras que el tejido de infarto no se tiñe y permanece pálido. Tras la tinción con TTC, se crioconservaron los cortes. Las imágenes de los cortes teñidos con TTC se adquirieron con una cámara Canon Digital IXUS 9015. Se calculó el volumen de infarto cortical total añadiendo el área media de cada corte y multiplicando por 2 mm (grosor de los cortes). Se realizó corrección de edema del volumen de infarto usando la ecuación, corrección del volumen (volumen de infarto cortical x volumen contralateral completo) / volumen ipsilateral completo. Se calculó el volumen de edema restando el volumen de lesión ipsilateral del hemisferio contralateral (Garcia *et al.* Stroke 26:627-634, 1995). Se realizaron mediciones usando un dispositivo de software de libre acceso (ImageJ 1.41, EE.UU.).

Pruebas de comportamiento

20 Poco antes de sacrificar los animales, se realizaron pruebas de comportamiento (puntuación neurológica de Garcia) con todas las ratas incluidas en el estudio según Garcia *et al.* (Stroke 26:627-634, 1995) con pequeñas modificaciones. Se realizaron seis pruebas de comportamiento independientes que se puntuaron desde 1-3 dando como resultado un máximo de 18 puntuaciones. Se han evaluado los siguientes comportamientos: actividad espontánea, estiramiento de las patas delanteras y capacidad de trepar, propiosensibilidad corporal (con barra roma), propiosensibilidad corporal (contacto con vibrisas), caminar de manera espontánea. Normalmente, los animales intactos o con operación simulada siempre puntuaron 18 P. En cambio, los animales con tMCAO puntuaron en promedio aproximadamente 6 P.

30 Los resultados de las pruebas con el modelo de accidente cerebrovascular se reflejan en las figuras 1 y 2.

En las figuras se han usado las siguientes abreviaturas:

35 NaCl/EtOH E/P i.v.: Disolución en cloruro de sodio/etanol que contiene hormonas tal como se describió anteriormente que se administra por vía intravenosa.

Lipofundin MCT E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 1 en la tabla 4 con hormonas añadidas tal como se describió anteriormente y que se administra por vía intravenosa.

40 Emulsión 5/5 i.v.: Emulsión según el ejemplo 2 sin hormonas y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 5:5 E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 2 en la tabla 4 con hormonas añadidas tal como se describió anteriormente y que se administra por vía intravenosa.

45 Emulsión 9:1 i.v.: Emulsión según el ejemplo 3 sin hormonas y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 9:1 E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 3 en la tabla 4 con hormonas añadidas y que se administra por vía intravenosa.

50 La figura 1 demuestra el efecto del tratamiento sobre el volumen del volumen de infarto de la corteza cerebral.

La figura 2 demuestra el efecto del tratamiento sobre la puntuación de comportamiento.

55 Tal como puede observarse a partir de los resultados, el uso de las emulsiones de aceite de pescado rico en ácidos grasos omega 3 (ejemplos 2 y 3) junto con las hormonas progestágeno y estrógeno demuestra un efecto sinérgico e inesperadamente mejorado.

60 Los datos del volumen de infarto se expresan como cambios en porcentaje en comparación con el volumen de infarto total en animales con tMCAO desprotegidos que siempre se estableció como el 100%. Esto permite una mejor comparación de los niveles de protección de un vistazo.

65 Para la evaluación exacta del volumen de infarto, se aplicó el método de tinción con cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC). Se diseccionaron rápidamente los cerebros y se cortaron dando cortes frontales de 2 mm de grosor usando una matriz cerebral de rata (Alto Brain Matrix, acero inoxidable, corte de rata de 1 mm, 300-600 GM, Harvard-Apparatus). Entonces se incubaron los cortes en una disolución de TTC al 2% (preparado en solución salina) a 37°C durante 15 min. El tejido vivo se tiñe de rojo, mientras que el tejido de infarto no se tiñe y permanece pálido. Tras la

tinción con TTC, se crioconservaron los cortes. Las imágenes de los cortes teñidos con TTC se adquirieron con una cámara Canon Digital IXUS 9015. Se calculó el volumen de infarto cortical total añadiendo el área media de cada corte y multiplicando por 2 mm (grosor de los cortes). Se realizó corrección de edema del volumen de infarto usando la ecuación, corrección del volumen (volumen de infarto cortical x volumen contralateral completo) / volumen ipsilateral completo. Se calculó el volumen de edema restando el volumen de lesión ipsilateral del hemisferio contralateral (Garcia *et al.* Stroke 26:627-634, 1995). Se realizaron mediciones usando un dispositivo de software de libre acceso (ImageJ 1.41, EE.UU.).

Pruebas de comportamiento

Poco antes de sacrificar los animales, se realizaron pruebas de comportamiento (puntuación neurológica de Garcia) con todas las ratas incluidas en el estudio según Garcia et al. (Stroke 26:627-634, 1995) con pequeñas modificaciones. Se realizaron seis pruebas de comportamiento independientes que se puntuaron desde 1-3 dando como resultado un máximo de 18 puntuaciones. Se han evaluado los siguientes comportamientos: actividad espontánea, estiramiento de las patas delanteras y capacidad de trepar, propiosensibilidad corporal (con barra roma), propiosensibilidad corporal (contacto con vibrisas), caminar de manera espontánea. Normalmente, los animales intactos o con operación simulada siempre puntuaron 18 P. En cambio, los animales con tMCAO puntuaron en promedio aproximadamente 6 P.

Los resultados de las pruebas con el modelo de accidente cerebrovascular se reflejan en las figuras 1 y 2.

En las figuras se han usado las siguientes abreviaturas:

NaCl/EtOH E/P i.v.: Disolución en cloruro de sodio/etanol que contiene hormonas tal como se describió anteriormente que se administra por vía intravenosa.

Lipofundin MCT E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 1 en la tabla 4 con hormonas añadidas tal como se describió anteriormente y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 5/5 i.v.: Emulsión según el ejemplo 2 sin hormonas y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 5:5 E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 2 en la tabla 4 con hormonas añadidas tal como se describió anteriormente y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 9:1 i.v.: Emulsión según el ejemplo 3 sin hormonas y que se administra por vía intravenosa.

Emulsión 9:1 E/P i.v.: Emulsión según el ejemplo 3 en la tabla 4 con hormonas añadidas y que se administra por vía intravenosa.

La figura 1 demuestra el efecto del tratamiento sobre el volumen del volumen de infarto de la corteza cerebral.

La figura 2 demuestra el efecto del tratamiento sobre la puntuación de comportamiento.

Tal como puede observarse a partir de los resultados, el uso de las emulsiones de aceite de pescado rico en ácidos grasos omega 3 (ejemplos 2 y 3) junto con las hormonas progestágeno y estrógeno demuestra un efecto sinérgico e inesperadamente mejorado.

REIVINDICACIONES

1. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas para administración parenteral que comprende:
- 5 a) progestágeno y/o estrógeno; y
- b) de 100 a 300 g/l, basándose en la emulsión de aceite en agua, de un componente oleoso que comprende:
- 10 i) al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y en la que la cantidad de triglicéridos de aceite de pescado se basa en la cantidad total del componente oleoso, y
- 15 ii) triglicéridos de cadena media (MCT).
2. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según la reivindicación 1, en la que los triglicéridos de aceite de pescado están presentes en una cantidad de al menos el 75% en peso y particularmente al menos el 85% en peso, basándose cada una en el peso total del componente oleoso.
- 20 3. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende triglicéridos de cadena media en una cantidad que oscila entre el 10 y el 45% en peso, basándose cada una en el peso total del componente oleoso.
- 25 4. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende progestágeno y estrógeno, preferiblemente en una razón en peso de 2:1 a 500:1, más preferiblemente de 2:1 a 200:1.
- 30 5. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende los triglicéridos de aceite de pescado y triglicéridos de cadena media en una razón en peso que oscila entre 1:1 y 9:1.
- 35 6. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende estradiol y/o progesterona.
- 40 7. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende progesterona en una cantidad que oscila entre 0,15 y 12 g/l y/o la emulsión comprende estradiol en una cantidad que oscila entre 0,015 g/l y 1,5 g/l.
- 45 8. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso, preferiblemente al menos el 55% en peso, más preferiblemente al menos el 60% en peso y lo más preferiblemente al menos el 65% en peso, basándose en la cantidad total de ácidos grasos esterificados.
- 50 9. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende un emulsionante seleccionado del grupo que consiste en lecitina de huevo, lecitina de soja, fosfolípidos derivados de crustáceos marinos y mezclas de los mismos.
- 55 10. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, en la que la emulsión comprende fosfolípidos que comprenden restos de ácidos grasos omega 3, preferiblemente fosfolípidos obtenidos de kril (*Euphausiacea*).
11. Emulsión de aceite en agua que contiene hormonas según una o más de las reivindicaciones anteriores, que comprende:
- a) progesterona en una cantidad que oscila entre 1,0 y 2,0 g/l y/o estradiol en una cantidad que oscila entre 0,05 g/l y 1,0 g/l;
- 60 b) de 100 a 300 g/l, basándose en la emulsión de aceite en agua, de un componente oleoso que comprende:
- i) al menos el 50% en peso de triglicéridos de aceite de pescado, en la que el triglicérido de aceite de pescado consiste en glicerol que se esterifica con ácidos grasos en la que dichos ácidos grasos comprenden ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) en una cantidad de al menos el 45% en peso de dichos ácidos grasos y preferiblemente la cantidad total de ácidos grasos omega 3 es de al menos el 50% en peso de dichos ácidos grasos, y
- 65

ii) del 10 al 50% en peso de MCT, basándose en el peso total del componente oleoso;

c) de 4 a 20 g/l de un fosfolípido; y

5

d) de 10 a 50 g/l de glicerol.

12. Composición farmacéutica que comprende o consiste en la emulsión de aceite en agua tal como se define en una o más de las reivindicaciones anteriores.

10

13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras accidentes cerebrovasculares y/o traumatismo.

14. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de daño neurológico tras conmoción cerebral o para su uso en el tratamiento o la profilaxis de acontecimientos traumáticos.

15

Figura 1

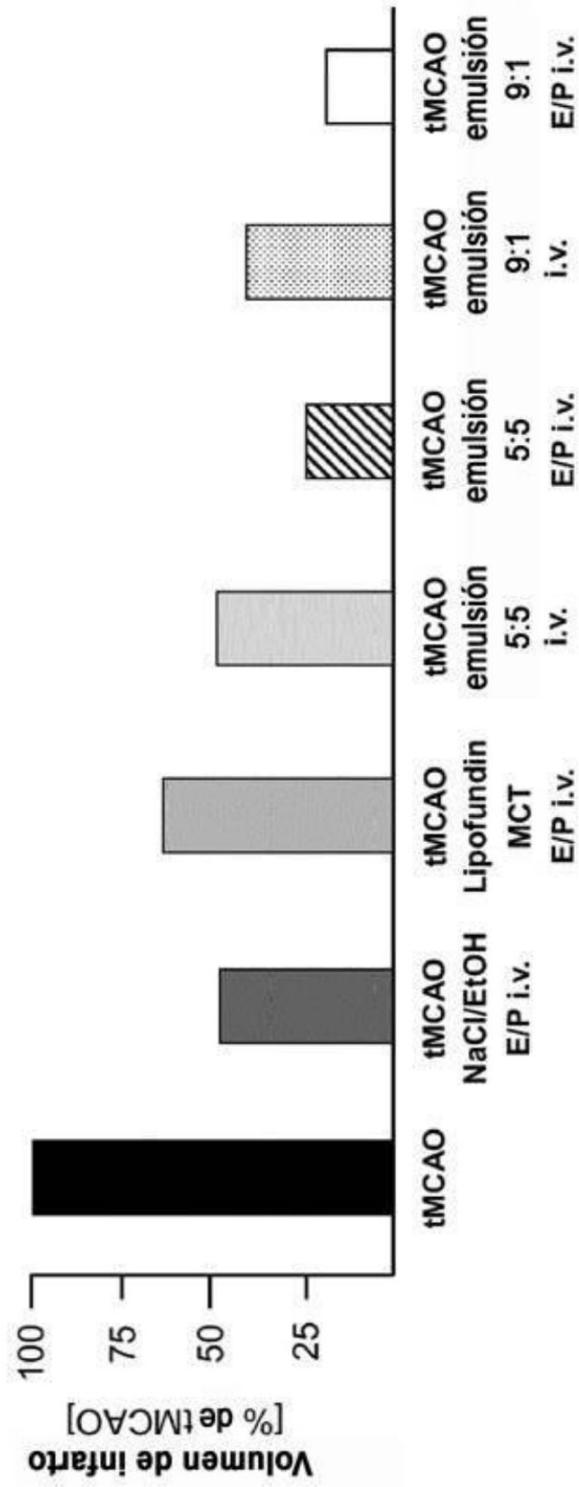


Figura 2

