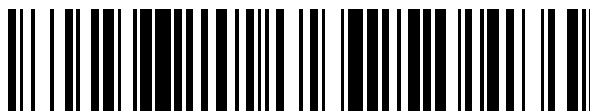


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 714**

51 Int. Cl.:

A61K 31/683 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.10.2010** **PCT/CA2010/001720**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.05.2011** **WO11050474**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2010** **E 10825905 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018** **EP 2493478**

54 Título: **Composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos**

30 Prioridad:

29.10.2009 US 256106 P

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

16.04.2018

73 Titular/es:

Acasti Pharma, Inc
545 Promenade du Centropolis, Suite 100
Laval, Quebec H7T 0A3, CA

72 Inventor/es:

SAMPALIS, FOTINI y
HARLAND, HENRI

74 Agente/Representante:

ILLESCAS TABOADA, Manuel

ES 2 663 714 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional con n.º de serie 61/256.106, presentada el 29 de octubre de 2009.

10 Campo de la invención

La invención se refiere a composiciones terapéuticas concentradas. Más particularmente, la invención se refiere a composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades.

15 Antecedentes de la invención

Los rasgos genéticos, acompañados de una dieta y un estilo de vida occidentales, han convertido los trastornos cardiometabólicos/síndromes metabólicos (MetS) en una epidemia mundial en aumento. El síndrome cardiometabólico se refiere a una acumulación de factores de riesgo cardiovascular que incluyen obesidad central, presión sanguínea elevada, tolerancia alterada a la glucosa, hiperglucemia y dislipidemia. La dislipidemia es un factor de riesgo modificable importante que conduce a aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (CVD) relacionadas, la principal causa de muerte en el país.

Enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares afectan a una de cada tres personas en los Estados Unidos durante su vida y representan casi un tercio de las muertes que se producen cada año (Rosamond W, et al., Circulation, 115, e69-e71, (2007)). Las enfermedades cardiovasculares se definen como enfermedades que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos.

Las estatinas se consideran la terapia de primera línea en sujetos con riesgo de CVD que se centra predominantemente en la reducción del colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C o "colesterol malo"), hasta los niveles diana recomendados. Sin embargo, las estatinas tienen un efecto mínimo en el aumento del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C o "colesterol bueno"), reconocido actualmente como un factor de riesgo importante en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Las opciones de tratamiento para aumentar el HDL-C son muy limitadas e incluyen Niaspan® (niacina de marca), que se sabe que causa sofoco y se indica que causa anomalías en las enzimas hepáticas, y Tricor® (fenofibratos de marca) que causa un aumento del 40 % en el LDL-C y un aumento significativo en las enzimas hepáticas, cambios hematológicos, cálculos biliares, pancreatitis, así como miopatía. Algunas opciones de tratamiento reducen los triglicéridos en plasma, pero tienen un efecto insignificante sobre el HDL-C (Lovaza®). Otras opciones de tratamiento aumentan el HDL-C, pero son menos eficaces sobre los triglicéridos.

Otras han intentado aumentar el HDL-C (colesterol bueno) sin afectar perjudicialmente a las LDL, a los TG, o causar hipertensión, pero no han tenido éxito. Por ejemplo, el torcetrapib parecía aumentar los niveles de las HDL, pero no tuvo ningún efecto sobre los TG y las LDL. Sin embargo, el torcetrapib causó una hipertensión grave y una alta mortalidad en los ensayos de la fase III. A pesar de los avances en la reducción del colesterol total, aún prevalecen las anomalías en los lípidos, así como otros efectos secundarios negativos graves. Las lagunas de tratamiento en el control de la dislipidemia, considerada uno de los cinco principales factores de riesgo modificables de las CVD, representan necesidades médicas críticas no satisfechas. Aunque la mayoría de los métodos de tratamiento solo se dirigen a la síntesis intrínseca del LDL-C en el hígado, se necesitan otros tratamientos para reducir adicionalmente los triglicéridos, al tiempo que aumenten el HDL-C y no aumenten el LDL-C.

Enfermedades neurodegenerativas y del desarrollo neurológico

Las enfermedades o trastornos neurodegenerativos y del desarrollo neurológico y el desequilibrio neurológico (en los neurotransmisores) afectan a muchas personas y se definen como neuropatías progresivas crónicas caracterizadas por la pérdida selectiva y generalmente simétrica de neuronas en los sistemas motor, sensorial o cognitivo. Un trastorno neurodegenerativo progresivo, la enfermedad de Alzheimer (EA), es irreversible y se caracteriza por un deterioro cognitivo gradual, cambios en el comportamiento y en la personalidad. Estos síntomas se refieren a cambios neuroquímicos, muerte neuronal y ruptura de las conexiones interneuronales. La pérdida de la memoria a corto plazo a menudo es el primer signo, seguido de las deficiencias cognitivas que implican múltiples funciones. Las etapas tempranas de la EA y la alteración cognitiva leve se caracterizan como formas más leves de la pérdida de memoria o la alteración cognitiva que pueden preceder a la aparición de la demencia y la EA. La prevención del declive cognitivo adicional en los sujetos con estas posibles afecciones precursoras es de suma importancia, dado que la reversibilidad de la EA no es posible.

Actualmente, se estima que existen 5,1 millones de personas con la enfermedad de Alzheimer (EA) en los Estados Unidos (Asociación de Alzheimer, 2007) y se espera que este número alcance los 13,2 millones en 2050 (Hebert et al., 2003). La enfermedad de Alzheimer está clasificada como la 7ª causa principal de muerte en los EE. UU. en personas de todas las edades y la 5ª en personas mayores de 65 años (National Center for Health Statistics, 2004).

5 En Canadá, se estima que hay 280.000 personas mayores de 65 años con AD, y se espera que más de 750.000 tengan la enfermedad en el año 2031 (Alzheimer Society of Canada, 2006). Se estima que el 10 % de todos los estadounidenses mayores de 70 años tienen EA en etapa temprana o alteración cognitiva leve.

La enfermedad de Alzheimer está caracterizada por dos características anatomopatológicas principales del cerebro: ovillos neurofibrilares intracelulares formados por la proteína τ (tau) anómala; y placas neuríticas extracelulares formadas por péptido amiloide β (A β) (Kuo et al., 1996). La sobreproducción de A β 42 se induce genéticamente, pero se requieren factores de riesgo ambientales para contraer por completo la EA (Grant et al., 2002). Entre estos factores de riesgo, el ácido docosahexaenoico (DHA) bajo es uno de los factores de riesgo dietéticos más importantes para la EA (Morris et al., 2005). Las razones del impacto del DHA en el aprendizaje y la memoria y de la asociación con la EA no están claras, pero podrían ser el resultado de su pérdida en las sinapsis (Montine et al., 2004), que normalmente son ricas en DHA (Salem et al., 2001), donde es particularmente importante para la transmisión postsináptica y la neuroprotección (Bazan, 2003). Los estudios en los modelos de animales han mostrado de manera coherente que el contenido de ácido graso n-3 en el cerebro depende en gran medida de la ingesta dietética y el envejecimiento (Favre et al., 2000; Youdim et al., 2000; Calon & Cole, 2007). Sin embargo, algunos informes afirman que unas concentraciones de DHA superiores tienen un efecto perjudicial en los pacientes neurológicos.

Ácidos grasos omega-3 e inflamación

25 Varios estudios de animales han mostrado que se ha encontrado que el aumento de la ingesta de DHA aumenta los niveles de acetilcolina en el hipocampo y sus derivados, la neuroprotectina DI, que disminuye la muerte celular (Aid et al., 2005; Lukiw et al., 2005). Un estudio realizado en ratones de edad avanzada mostró que la ingesta de DHA mejoraba el rendimiento de la memoria (Lim et al., 2001). En otro modelo de ratón con enfermedad de Alzheimer, la reducción del DHA de la dieta mostró una pérdida de proteínas postsinápticas asociadas a un aumento de la oxidación, que se localizó en las dendritas. Sin embargo, cuando un grupo de ratones con restricción de DHA recibió DHA, estos mostraron signos de que la ingesta de DHA los protegía contra una patología dendrítica, lo que implica que el DHA podría ser útil para prevenir la alteración cognitiva en la enfermedad de Alzheimer (Calon et al., 2004).

Varios estudios epidemiológicos han mostrado un efecto protector asociado a un aumento de la ingesta de pescado (una fuente directa de ácidos grasos omega-3) contra la demencia y el declive de la alteración cognitiva (Kalmijn et al., 1997; Barberger-Gateau et al., 2002; Morris et al., 2003). Recientemente, un gran estudio aleatorio de doble ciego controlado con placebo encontró que 1,6 g de DHA y 0,7 de EPA pueden ser beneficiosos para reducir el riesgo de EA (Freund-Levi et al., 2006). Además, existen cada vez más pruebas de que el aporte suplementario en la dieta de ácidos grasos omega-3 puede ser beneficioso en diferentes afecciones psiquiátricas, tales como cambios del estado de ánimo y del comportamiento, depresión y demencia (Bourre et al., 2005; Peet and Stokes, 2005; Stoll et al., 1999).

Los efectos antiinflamatorios de los ácidos grasos omega-3 se han estudiado ampliamente con resultados positivos para varias enfermedades inflamatorias crónicas. La proteína C reactiva (CRP) es una proteína que aumenta drásticamente durante los procesos inflamatorios y se mide comúnmente como un indicador de inflamación. Una mayor ingesta de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 se relaciona con una prevalencia inferior de los niveles elevados de CRP. Los modelos de colitis en animales indican que el aceite de pescado, una fuente natural de los ácidos grasos omega-3, reduce el daño y la inflamación del colon. Los suplementos de aceite de pescado en los sujetos con IBD han mostrado que modulan los niveles de los mediadores inflamatorios y pueden ser beneficiosos para la inducción y el mantenimiento de la remisión de la colitis ulcerosa. En el control de la RA y otras afecciones inflamatorias, los efectos secundarios limitan el uso de los AINE, tales como salicilatos, ibuprofeno y naproxeno. Un ensayo clínico mostró que el 39 por ciento de los sujetos con RA con aporte suplementario de aceite de hígado de bacalao fueron capaces de reducir su requisito diario de AINE en más del 30 %. Los ácidos grasos omega-3 se han usado para reducir el riesgo de muerte súbita causada por arritmias cardíacas.

Además, se ha mostrado que los ácidos grasos omega-3 mejoran la sensibilidad a la insulina y la tolerancia a la glucosa en hombres normoglucémicos y en personas obesas. También se ha mostrado que los ácidos grasos omega-3 mejoran la resistencia a la insulina en sujetos obesos y no obesos con un fenotipo inflamatorio. Se ha mostrado que el metabolismo de lípidos, glucosa e insulina se mejora en sujetos hipertensos obesos a través del tratamiento con ácidos grasos omega-3.

Los ácidos grasos omega-3 pueden obtenerse a partir de organismos marinos, tales como, peces, camarón antártico, etc. y se comercializan como suplementos dietéticos. Sin embargo, la ingesta de ácidos grasos omega-3 por el organismo no es eficaz y estos aceites crudos contienen otras sustancias, tales como triglicéridos y colesterol, que se sabe que causan efectos secundarios perjudiciales, tales como un aumento del LDL-C. Determinados aceites de pescado se han desarrollado como etil ésteres de ácido OM3 de calidad farmacéutica. Uno de tales etil ésteres

de ácido OM3 se comercializa actualmente con el nombre comercial Lovaza®. Los estudios han mostrado que Lovaza® puede reducir los niveles de triglicéridos en plasma en los pacientes, sin embargo, Lovaza® tiene un efecto insignificante en el aumento del colesterol bueno (HDL-C). El AMR101 es otra forma de etil éster de los ácidos grasos OM3 basados en EPA con poco o nada de DHA que se encuentra actualmente en fase de ensayos clínicos.

5 El AMR101 también parece reducir los triglicéridos, pero también tiene un efecto insignificante en el aumento del HDL-C.

Una composición de fosfolípidos de ácidos grasos OM3 se ha divulgado en el documento US 2004/0234587. Esta composición de fosfolípidos tiene ácidos grasos OM3 esterificados a los fosfolípidos. Se indica que esta composición de fosfolípidos está en una concentración de aproximadamente el 40 % de fosfolípidos (p/p de la composición) y contiene altas concentraciones de triglicéridos (aproximadamente el 45 %) y ácidos grasos libres (aproximadamente el 15 %). Cuando se ensayó en sujetos, esta composición demostró muy poco efecto en la reducción de los niveles de triglicéridos en plasma (menos del 11 % de reducción). [0016] Las composiciones de aceite de origen marino que comprenden ácidos grasos libres y lípidos, incluyendo ácidos grasos OM3 y fosfolípidos, se han divulgado en el documento WO 2000/23546, sin embargo, las composiciones no divulgan ácidos grasos OM3 esterificados con fosfato de diglicerol y tienen concentraciones muy altas de triglicéridos y ácidos grasos libres y, por estas razones, no se espera que reduzcan los triglicéridos ni siquiera al nivel de la composición divulgada en el documento US 2004/0234587, tal como se ha descrito anteriormente.

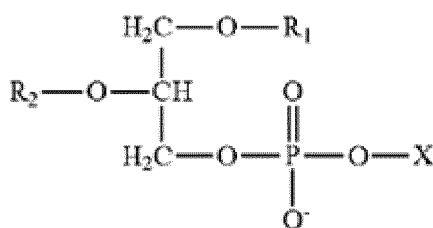
Por lo tanto, se necesitan nuevas formas de ácidos grasos omega-3 que sean útiles para el tratamiento o la prevención de enfermedades. En el presente documento se describen composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos novedosas, así como composiciones farmacéuticas que comprenden las mismas, y métodos para su uso.

Los documentos US 2009/118227 A1, JP 10 155459 A y WO 2005/011712 A1 divulgan el tratamiento de diversas enfermedades con astaxantina. Los documentos WO 97/39759 A2, EP 2085089 A1, WO 03/072111 A2 y WO 2005/037848 A2 divulgan el tratamiento de diversas enfermedades con fosfolípidos que comprenden ácidos grasos omega-3. Los documentos WO 2008/117062 A1, WO 03/011873 A2, WO 02/102394 A2, y Bunea et al., Alt. Med. Rev. 2004, 9(4):420-428 divulgan el uso de extracto de aceite de camarón antártico en el tratamiento de diferentes enfermedades, incluyendo enfermedades cardiovasculares, artritis, cáncer de piel y diabetes.

Sumario de la invención

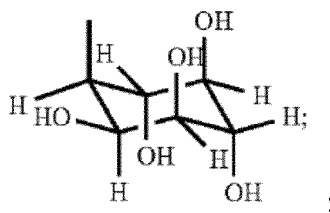
La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Por consiguiente, en un aspecto, se describen composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos, comprendiendo las composiciones compuestos de la Fórmula I:



(I)

en la que R₁ y R₂ representan cada uno independientemente un residuo de ácido docosahexaenoico (DHA) o de ácido eicosapentaenoico (EPA);
cada X se selecciona independientemente entre -CH₂CH₂NH₃, -CH₂CH₂N(CH₃)₃ o



los fosfolípidos totales en la composición están en una concentración de aproximadamente el 66 % (p/p);
la composición comprende adicionalmente astaxantina;
el EPA total en el extracto está en una concentración de entre aproximadamente el 15 % y el 25 % (p/p);

el DHA total en el extracto está en una concentración de entre aproximadamente el 10 % y el 15 % (p/p) y la composición para ser administrada a un sujeto, en el que el sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano.

- 5 En otras realizaciones, R1 es ácido docosahexaenoico (DHA). En otras realizaciones diferentes, R2 es EPA y R1 es DHA. En otras realizaciones distintas, R2 es DHA y R1 es DHA.

En otras realizaciones, R1 es ácido eicosapentaenoico (EPA). En otras realizaciones diferentes, R2 es DHA y R1 es EPA. En otras realizaciones distintas, R2 es EPA y R1 es EPA.

- 10 En algunas realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen predominantemente DHA en la posición R2 de Fórmula I. En otras realizaciones, hay más DHA en los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos que EPA. En algunas realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen más del 60 % de DHA. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen más del 70 % de DHA. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen más del 80 % de DHA. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen más del 90 % de DHA. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tienen más del 95 % de DHA.

- 25 En algunas realizaciones, hay ácidos grasos libres en la composición de fosfolípidos terapéutica concentrada, además de los ácidos grasos esterificados con fosfato. En otras realizaciones, esencialmente no hay ácidos grasos libres (también expresado como el 0 % de ácidos grasos libres (o FFA)) en la composición de fosfolípidos terapéutica concentrada.

- 30 En otras realizaciones, la relación de la cantidad total de DHA respecto a EPA en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente 1:1 a 1:0,1. En algunas realizaciones, la relación es de entre aproximadamente 1:0,7 y aproximadamente 1:0,3. En otras realizaciones, la relación es de aproximadamente 1:0,5.

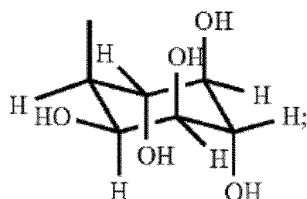
- 35 En algunas realizaciones, la relación de la cantidad total de EPA respecto a DHA en los compuestos de Fórmula I en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente 1:1 y 1:0,1. En algunas realizaciones, la relación es de entre aproximadamente 1:0,7 y aproximadamente 1:0,3. En otras realizaciones, la relación es de aproximadamente 1:0,5.

- 40 En algunas realizaciones, la cantidad total de ácidos grasos OM3 en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente el 20 % y aproximadamente el 50 %. En otras realizaciones, la cantidad total de ácidos grasos OM3 en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente el 30 % y aproximadamente el 45 %. En otras realizaciones, la cantidad total de ácidos grasos OM3 en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de aproximadamente el 40 %.

- 45 En algunas realizaciones, la cantidad total de DHA en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente el 10 % y el 15 %. En algunas realizaciones, la cantidad total de DHA en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de aproximadamente el 14 %.

- 50 En algunas realizaciones, la cantidad total de DHA en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de entre aproximadamente el 15 % y el 25 %. En algunas realizaciones, la cantidad total de EPA en la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos es de aproximadamente el 22 %.

En algunas realizaciones, X es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3$. En otras realizaciones, X es $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$. En algunas realizaciones, X es

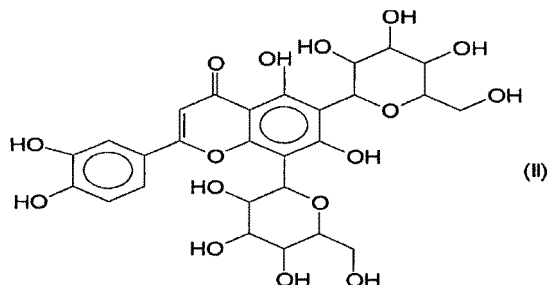


- 55 En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende predominantemente fosfolípidos que contienen $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ (también conocido como fosfoiidil-N-trimetiletanolamina).

En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende adicionalmente un

antioxidante. En algunas realizaciones, el antioxidante es un carotenoide. En otras realizaciones, el carotenoide es una provitamina A. En otras realizaciones, el antioxidante es un flavonoide. En otras realizaciones, el flavonoide se selecciona entre naringina, naringenina, hesperetina/kaempferol, rutina, luteolina, neohesperidina, quecertina. En otras realizaciones, el flavonoide es

5



10

En algunas realizaciones, la concentración del flavonoide es de entre aproximadamente 1 mg/kg (p/p de la composición) y aproximadamente 20 mg/kg (p/p de la composición). En otras realizaciones, la concentración del flavonoide es mayor de aproximadamente 10 mg/kg (p/p de la composición).

15

En realizaciones adicionales, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de astaxantina mayor de 2.000 mg/kg (p/p de la composición). En aún otras realizaciones, la concentración de la astaxantina es de entre aproximadamente 2.000 mg/kg (p/p de la composición) y aproximadamente 5.500 mg/kg (p/p de la composición).

20

En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres por debajo de aproximadamente el 22 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres por debajo de aproximadamente el 15 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres por debajo de aproximadamente el 10 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres por debajo de aproximadamente el 5 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres de aproximadamente el 1 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres por debajo del 1 % (p/p de la composición). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres del 0 % (p/p de la composición).

25

30

En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres de entre aproximadamente el 1 % (p/p) y aproximadamente el 20 % (p/p). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres de entre aproximadamente el 5 % (p/p) y aproximadamente el 17 % (p/p). En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de ácidos grasos libres de entre aproximadamente el 10 % (p/p) y aproximadamente el 15 % (p/p).

35

40

En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos de entre aproximadamente el 0 % (p/p) y aproximadamente el 30 % (p/p). En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos de entre aproximadamente el 5 % y aproximadamente el 20 %. En otras realizaciones más, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos de entre aproximadamente el 10 % y aproximadamente el 15 %.

45

En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos por debajo de aproximadamente el 15 %. En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos por debajo de aproximadamente el 10 %. En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos por debajo de aproximadamente el 5 %. En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos de aproximadamente el 1 %. En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos por debajo del 1 %. En algunas realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos tiene una concentración de triglicéridos de aproximadamente el 0 %.

50

55

En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende al menos el 50 % de los compuestos de Fórmula I (p/p), en la que al menos el 15 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 9 % del contenido de ácido graso es DHA y al menos el 0,1 % de astaxantina (p/p). En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende al menos el 66 % de los compuestos de Fórmula I

(p/p), en la que al menos el 20% del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 12 % del contenido de ácido graso es DHA y al menos el 0,4% de astaxantina (p/p). En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende al menos el 90% de los compuestos de Fórmula I (p/p), al menos el 22 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 12 % del contenido de ácido graso es DHA y el 0,4 % de astaxantina (p/p).

En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende al menos el 50 % de los compuestos de Fórmula I (p/p de la composición), en la que al menos el 15 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 9 % del contenido de ácido graso es DHA. En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende al menos el 66% de los compuestos de Fórmula I (p/p), en la que al menos el 20 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 12 % del contenido de ácido graso es DHA. En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende por encima del 70 % de los compuestos de Fórmula I (p/p), en la que al menos el 22 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 12 % del contenido de ácido graso es DHA. En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende por encima del 90 % de los compuestos de Fórmula I (p/p), en la que al menos el 22 % del contenido de ácido graso es EPA, al menos el 12 % del contenido de ácido graso es DHA.

En un aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos que comprende los compuestos de Fórmula en una concentración de aproximadamente el 66 % (p/p (fosfolípidos/composición total), una concentración de ácidos grasos libres (FFA) menor del 6 % (p/p de FFA/composición total) y una concentración de triglicéridos de aproximadamente el 0 %, siendo útil la composición para el tratamiento y la prevención de trastornos cardiometabólicos/síndromes metabólicos. En algunas realizaciones, 1 g de la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos comprende aproximadamente 387 mg de los ácidos grasos OM3 totales, en los que el EPA es de aproximadamente 215 mg y el DHA es de aproximadamente 136 mg y la astaxantina de aproximadamente 5 mg.

En un aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos que comprende los compuestos de Fórmula en una concentración por encima del 70 % (p/p (fosfolípidos/composición total), una concentración de ácidos grasos libres (FFA) de aproximadamente el 0 % y una concentración de triglicéridos de aproximadamente el 0 %, siendo la composición útil para el tratamiento y la prevención de enfermedades y trastornos neurodegenerativos y del desarrollo neurológico.

En un aspecto, la invención se basa en parte en el descubrimiento inesperado y sorprendente de que las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos son útiles en la modulación de los niveles de triglicéridos en plasma, así como los niveles de HDL-C en plasma, aunque no elevan los niveles de LDL-C. Este descubrimiento inesperado y sorprendente es útil en el tratamiento o la prevención de enfermedades asociadas al aumento de los niveles de triglicéridos, al aumento de los niveles de LDL-C y a la reducción de los niveles de HDL-C. Tales enfermedades y trastornos incluyen, pero sin limitación, trastornos cardiometabólicos/síndromes metabólicos (MetS), enfermedades/trastornos neurodegenerativos y del desarrollo neurológico y enfermedades inflamatorias.

En otro aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en un método de tratamiento o prevención de un trastorno cardiometabólico/síndrome metabólico, comprendiendo el método la administración a un paciente que lo necesite de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada. En algunas realizaciones, el trastorno cardiometabólico se selecciona entre aterosclerosis, arterioesclerosis, cardiopatía coronaria (arteriopatía carotídea) (CUD o CAD), síndrome coronario agudo (o ACS), cardiopatía valvular, trastornos de la válvula aórtica y la válvula mitral, arritmia/fibrilación auricular, cardiomiopatía e insuficiencia cardíaca, angina de pecho, infarto agudo de miocardio (AMI), hipertensión, hipotensión ortostática, shock, embolia (pulmonar o venosa), endocarditis, enfermedades de las arterias, la aorta y sus ramas, trastornos del sistema vascular periférico (arteriopatías periféricas o PAD), enfermedad de Kawasaki, cardiopatía congénita (anomalías cardiovasculares) e ictus (enfermedad cerebrovascular), dislipidemia, hipertrigliceridemia, hipertensión, insuficiencia cardíaca, arritmias cardíacas, niveles de HDL bajos, niveles de LDL altos, angina estable, cardiopatía coronaria, infarto agudo de miocardio, prevención secundaria del infarto de miocardio, cardiomiopatía, endocarditis, diabetes de tipo 2, resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa, hipercolesterolemia, ictus, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia, nefropatía crónica, claudicación intermitente, hiperfosfatemia, deficiencia de omega-3, deficiencia de fosfolípidos, aterosclerosis carotídea, arteriopatía periférica, nefropatía diabética, hipercolesterolemia en la infección por VIH, síndrome coronario agudo (ACS), hepatopatía grasa no alcohólica/esteatohepatitis no alcohólica (NAFLD/NASH), arteriopatías oclusivas, aterosclerosis cerebral, arterioesclerosis, trastornos cerebrovasculares, isquemia miocárdica, coagulopatías que conducen a la formación de trombos en una neuropatía autónoma diabética y de los vasos. En algunos casos, los métodos descritos anteriormente para el tratamiento o la prevención de un trastorno cardiometabólico/síndrome metabólico pueden utilizar las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos que tienen una concentración del 66 % (p/p (fosfolípidos/composición)).

En otro aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en los métodos de tratamiento, prevención o mejora de la cognición y/o una enfermedad, trastorno o alteración cognitivos ((deficiencias de) memoria, concentración y aprendizaje), o de tratamiento o prevención de trastornos neurodegenerativos, comprendiendo el método la administración de dicha composición de fosfolípidos terapéutica

concentrada a un paciente que lo necesite. En algunas realizaciones, la enfermedad, trastorno o alteración cognitivos se selecciona entre trastorno por déficit de atención (ADD), trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), autismo, trastorno del espectro autista (ASD), dislexia, alteración de la memoria asociada a la edad y trastornos de aprendizaje, amnesia, alteración cognitiva leve, enfermedad previa a la enfermedad de Alzheimer, con alteración cognitiva sin demencia, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, enfermedad de Pick, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Lou Gehrig, síndrome previo a la demencia, demencia del cuerpo de Lewy, atrofia dentatorubropalidoluisiana, ataxia de Friedreich, atrofia de múltiples sistemas, ataxia espinocerebelosa de tipos 1, 2, 3, 6, 7, esclerosis lateral amiotrófica, paraparesis espástica hereditaria, atrofia muscular espinal, atrofia muscular espinal o bulbar, declive cognitivo relacionado con la edad, deterioro cognitivo, alteración mental moderada, deterioro mental como resultado del envejecimiento, afecciones que influyen en la intensidad de las ondas cerebrales y/o utilización de la glucosa cerebral, estrés, ansiedad, alteración de la concentración y la atención, deterioro del estado de ánimo, trastornos neurodegenerativos, del desarrollo neurológico, del bienestar mental y cognitivos generales, trastornos hormonales, desequilibrio neurológico o cualquier combinación de los mismos. En una realización específica, el trastorno cognitivo es la alteración de la memoria. En algunos casos, los métodos descritos anteriormente para el tratamiento, la prevención o la mejora de la cognición y/o una enfermedad, trastorno o alteración cognitivos ((deficiencias de) memoria, concentración y aprendizaje), o para el tratamiento o prevención de trastornos neurodegenerativos pueden utilizar las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos que tienen una concentración mayor del 70 % (p/p (fosfolípidos/composición)).

En otro aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en un método para la inhibición, la prevención o el tratamiento de la inflamación o de una enfermedad inflamatoria, comprendiendo el método la administración de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada a un sujeto que lo necesite. En algunas realizaciones, la inflamación o enfermedad inflamatoria se selecciona entre rechazo a los trasplantes de órganos; lesión por reoxigenación resultante del trasplante de órganos (véase Grupp et al., J. Mol. Cell Cardiol. 31: 297-303 (1999)) incluyendo, pero sin limitación, trasplante de los siguientes órganos: corazón, pulmón, hígado y riñón; enfermedades inflamatorias crónicas de las articulaciones, incluyendo artritis, artritis reumatoide, osteoartritis y osteopatías asociadas al aumento de la resorción ósea; enteropatías inflamatorias (IBD), tales como ileítis, colitis ulcerosa (UC), síndrome de Barrett y enfermedad de Crohn (CD); neumopatías inflamatorias, tales como asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) y neumopatía obstructiva crónica (COPD); enfermedades inflamatorias del ojo, incluyendo distrofia corneal, tracoma, oncocercosis, uveítis, endoftalmitis y oftalmitis simpáticas; enfermedades inflamatorias crónicas de la encía, incluyendo gingivitis y periodontitis; enfermedades inflamatorias del riñón, incluyendo complicaciones urémicas, glomerulonefritis y nefrosis; enfermedades inflamatorias de la piel, incluyendo esclerodermatitis, psoriasis y eccema; enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central, incluyendo enfermedades desmielinizantes crónicas del sistema nervioso, esclerosis múltiple, neurodegeneración relacionada con el SIDA y enfermedad de Alzheimer, meningitis infecciosa, encefalomielitis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, epilepsia, esclerosis lateral amiotrófica y encefalitis vírica o autoinmunitaria, preeclampsia; insuficiencia hepática crónica, traumatismo cerebral y de la médula espinal, y cáncer. La enfermedad inflamatoria también puede ser una inflamación sistémica del organismo, representada por un choque grampositivo o gramnegativo, un choque hemorrágico o anafiláctico, o un choque inducido por la quimioterapia de cáncer en respuesta a las citocinas proinflamatorias, por ejemplo, un choque asociado a las citocinas proinflamatorias. Tal choque puede estar inducido, *por ejemplo*, por un agente quimioterapéutico que se administra como un tratamiento para el cáncer. Otros trastornos incluyen depresión, obesidad, enfermedades alérgicas, episodios cardiovasculares agudos, enfermedades de atrofia muscular y caquexia de cáncer. Además, la inflamación que resulta de las intervenciones quirúrgicas y los traumatismos puede tratarse con las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos.

En la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular también incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente un experto en la materia a la que pertenece la presente invención.

Descripción de las figuras

La Figura 1A representa un diagrama de flujo del proceso de preparación de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos.

La Figura 1B representa un diagrama de flujo del proceso de preparación de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos.

La Figura 1C representa el esquema del aparato de extracción de CO₂ supercrítico.

La Figura 2 representa la concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

La Figura 3 representa la concentración de colesterol de HDL en plasma en circulación de ratones C57BL/6

tratados con la Composición 3.

La Figura 4 representa el porcentaje en plasma en circulación del colesterol de HDL en ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

5 La Figura 5 representa la concentración de colesterol de LDL en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

La Figura 6 representa el porcentaje en plasma en circulación del colesterol de LDL en ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

10 La Figura 7 representa la concentración de NEFA en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

15 La Figura 8 representa la concentración de glucosa en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

La Figura 9 representa la concentración de fosfolípidos en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

20 La Figura 10 representa la concentración de ALT en plasma en circulación de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

La Figura 11 representa la concentración de colesterol total en hígado de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

25 La Figura 12 representa la concentración de triglicéridos en hígado de ratones C57BL/6 tratados con la Composición 3.

30 La Figura 13 representa la concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones LDLr KO tratados con la Composición 3.

La Figura 14 representa la concentración de colesterol de HDL en plasma en circulación de ratones LDLr KO tratados con la Composición 3.

35 La Figura 15 representa el porcentaje en plasma en circulación del colesterol de HDL en ratones LDLr KO tratados con la Composición 3.

La Figura 16 representa la concentración de colesterol total en hígado de ratones LDLr KO tratados con la Composición 3.

40 La Figura 17 representa la concentración de triglicéridos en hígado de ratones LDLr KO tratados con la Composición 3.

45 La Figura 18 representa la concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones ApoA-1 CET Tg tratados con la Composición 3.

La Figura 19 representa la concentración de colesterol total en plasma en circulación de ratas macho adultas SD, ZDF, SHR y JCR:LA.

50 La Figura 20 representa la concentración de colesterol total en plasma en circulación de ratas macho adultas SD, ZDF, SHR y JCR:LA.

La Figura 21 representa la concentración de HDL/LDL en plasma en circulación de ratas macho adultas SD, ZDF, SHR y JCR:LA.

55 La Figura 22 representa la concentración de colesterol total/HDL en plasma en circulación de ratas macho adultas SD, ZDF, SHR y JCR:LA.

La Figura 23 representa el tiempo de protrombina de ratas macho adultas SD, ZDF, SHR y JCR:LA.

60 La Figura 24 representa los datos de área bajo la curva de OGTT en ratas macho ZDF tratadas con la Composición 3 durante 28 días.

65 La Figura 25 representa los datos de área bajo la curva de OGTT en ratas macho ZDF tratadas con la Composición 3 durante 28 días.

La Figura 26 representa los datos de área bajo la curva de OGTT en ratas macho SD tratadas con la Composición 3 durante 28 días.

La Figura 27 representa los datos de área bajo la curva de OGTT en ratas macho ZDF tratadas con la Composición 3 durante 28 días.

La Figura 28 representa los efectos de la Composición 3 sobre el colesterol total en plasma en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas.

La Figura 29 representa los efectos de la Composición 3 sobre el colesterol de HDL en plasma en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas.

La Figura 30 representa los efectos de la Composición 3 sobre los triglicéridos en plasma en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas.

La Figura 31 representa los efectos de la Composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho ZDF.

La Figura 32 representa los efectos de la Composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho ZDF.

La Figura 33 representa los efectos de la Composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho SD.

La Figura 34 representa los efectos de la Composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho SD.

La Figura 35 representa los efectos comparativos de la Composición 3 y Lovaza ^(R) sobre el índice de omega-3.

Descripción detallada de la invención

De manera inesperada, se ha descubierto que las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos demuestran efectos sorprendentes en el tratamiento de trastornos metabólicos, enfermedades cardiovasculares, trastornos del desarrollo neurológico y enfermedades neurodegenerativas, y trastornos inflamatorios.

Definiciones

Las siguientes definiciones se usan en relación con las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos:

las expresiones "composición terapéutica concentrada en fosfolípidos" y "composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos", tal como se usan en el presente documento, se refieren a las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos que comprenden los compuestos de Fórmula I. Los artículos "un" y "una" se usan en la presente divulgación para referirse a uno o más de uno (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A modo de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento.

El término "y/o" se usa en la presente divulgación para significar "y" u "o", a menos que se indique lo contrario.

El término "aproximadamente", cuando se usa en la presente divulgación junto con un valor indicado, significa el valor indicado e incluye el intervalo de + o - el 5 % del valor. Por ejemplo, la frase aproximadamente el 80 % significa el 80 % y + o - el 5 % de 80, es decir, del 76 % al 84 %. El valor indicado "aproximadamente el 0 %", tal como se usa en el presente documento, significa que la cantidad detectable es menor de una parte por mil.

La expresión "ácido graso" o "residuo de ácido graso", tal como se usa en el presente documento, significa un ácido carboxílico con una cadena alifática no ramificada larga, que está saturado o insaturado. Los ácidos grasos saturados tienen la fórmula general $C_nH_{2n+1}COOH$. Los ejemplos de ácidos grasos saturados incluyen, pero sin limitación: ácido propanoico, ácido butanoico, ácido pentanoico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido octanoico, ácido nonanoico, ácido decanoico, ácido undecanoico, ácido dodecanoico, ácido tridecanoico, ácido tetradecanoico, ácido pentadecanoico, ácido hexadecanoico, ácido heptadecanoico, ácido octadecanoico, ácido nonadecanoico, ácido eicosanoico, ácido heneicosanoico, ácido docosanoico, ácido tricosanoico, ácido tetracosanoico, ácido pentacosanoico, ácido hexacosanoico, ácido heptacosanoico, ácido octacosanoico, ácido nonacosanoico, ácido triacontanoico, ácido henatriacontanoico, ácido dotriacontanoico, ácido tritriacontanoico, ácido tetratriacontanoico, ácido pentatriacontanoico, ácido hexatriacontanoico. Una grasa insaturada es una grasa o ácido graso en el que hay uno o más enlaces dobles en la cadena de ácido graso. Una molécula de grasa es monoinsaturada si esta contiene un enlace doble y poliinsaturada si esta contiene más de un enlace doble. Los ejemplos de ácidos grasos insaturados incluyen, pero sin limitación: ácido miristoleico, ácido palmitoleico, ácido sapiénico, ácido oleico, ácido linoleico, ácido α -linoleico, ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido erúico, ácido docosahexaenoico (DHA) y ácido docosapentaenoico.

Un "sujeto" es un mamífero, por ejemplo, un ser humano, ratón, rata, cobaya, perro, gato, caballo, vaca, cerdo o primate no humano, tal como un mono, chimpancé, babuino o rhesus.

Las "sales farmacéuticamente aceptables" representativas incluyen, por ejemplo, sales solubles en agua e insolubles en agua, tales como las sales de acetato, amoníaco (4,4-diaminoetilbenzo-2,2-disulfonato), benzenosulfonato, benzonato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, butirato, calcio, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, clavulato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fiunarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicilarsanilato, hexafluorofosfato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, magnesio, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, sal de amonio de N-metilglucamina, 3-hidroxi-2-naftoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato (1,1-meteno-bis-2-hidroxi-3-naftoato, enbonato), pantotenato, fosfato/difosfato, picrato, poligalacturonato, propionato, p-toluenosulfonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, subsalicilato, suramato, tanato, tartrato, teocato, tosilato, trietyoduro y valerato.

El término "trastorno metabólico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a trastornos, enfermedades y síndromes que implican dislipidemia, y los términos trastorno metabólico, enfermedad metabólica y síndrome metabólico se usan de manera intercambiable en el presente documento.

Una "cantidad eficaz", cuando se usa para describir una cantidad de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos útil para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o trastorno, es una cantidad que es efectiva con respecto a la enfermedad o el trastorno relacionados con tal cantidad eficaz en particular.

El término "portador", tal como se usa en la presente divulgación, abarca portadores, excipientes y diluyentes y significa un material, composición o vehículo, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación, implicado en portar o transportar un agente farmacéutico desde un órgano o parte del cuerpo hasta otro órgano o parte del cuerpo.

El término "tratamiento", con respecto a un sujeto, se refiere a la mejora de al menos un síntoma del trastorno del sujeto. El tratamiento puede ser la curación, la mejora o el alivio, al menos parcialmente, del trastorno.

El término "trastorno" se usa en la presente divulgación para significar, y se usa de manera intercambiable con, los términos enfermedad, afección o dolencia, a menos que se indique lo contrario.

Los términos "administrar" o "administración", tal como se usan en la presente divulgación, se refieren a la administración directa de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del compuesto o una composición a un sujeto.

Métodos de preparación de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos

Las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos pueden prepararse o producirse mediante cualquier método conocido por un experto en la materia. Por ejemplo, los fosfolípidos que contienen aceites pueden aislarse de las fuentes naturales (véanse los documentos US 2004/0234587, US 2009/0074857 y US 2008/0274203), que pueden procesarse, a continuación, adicionalmente. Como alternativa, después del proceso indicado en la Figura 1A, se produce un aceite de camarón antártico de materia prima a granel listo para su procesamiento posterior. Estos fosfolípidos que contienen aceites pueden procesarse adicionalmente usando la extracción de CO₂ supercrítico a contracorriente (Lucien, F. P., et al., Australas Biotechnol. 1993, 3, 143-147) para concentrar las composiciones para producir las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos descritas en el presente documento (véase la Figura 1B). Por ejemplo, puede usarse la extracción de CO₂ supercrítico a contracorriente a 70 °C y 30 MPa y con una relación de CO₂/aceite de 72 para retirar determinadas biomoléculas, tales como todos los triglicéridos, del aceite de camarón antártico como materia prima en bruto, así como algunos de los ácidos grasos libres (Figura 1B). A medida que se retiran más TG y FFA del aceite de camarón antártico como materia prima en bruto, aumenta la concentración de los fosfolípidos. Cuando se han retirado los TG a través de este proceso, la composición de fosfolípidos es de aproximadamente el 66 % de concentración (p/p (fosfolípidos/composición)) y contiene menos del 5 % de ácidos grasos libres (p/p). A medida que se retiran más FFA usando este proceso, se produce una composición de fosfolípidos terapéuticas concentradas que tiene una concentración de fosfolípidos de por encima del 70 % hasta aproximadamente el 90 % (p/p (fosfolípidos/composición)) que tiene aproximadamente el 1 % o menos de TG y aproximadamente el 0 % de FFA. Pueden usarse otras biomásas acuáticas y/o marinas como materiales de partida, tales como, por ejemplo, camarones o mejillones atlánticos. Los componentes adicionales pueden añadirse antes, durante o después del procesamiento. Como alternativa, pueden sintetizarse los fosfolípidos; una manera típica de sintetización sería, entre otras, según el procedimiento descrito en el documento US 7.034.168, cuya divulgación se incorpora al presente documento en su totalidad.

Métodos de uso de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos

En el presente documento se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos de reducción de las concentraciones en plasma en circulación de triglicéridos, colesterol de LDL, colesterol total y NEFA, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada a un sujeto que lo necesita.

También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos de aumento de las concentraciones en plasma de colesterol de HDL y de las concentraciones hepáticas de triglicéridos y colesterol total, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada a un sujeto que lo necesita.

5 En otro aspecto, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en un método de reducción de los TG sin el riesgo de aumento de las LDL, comprendiendo el método la administración de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada a un sujeto que lo necesita.

10 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de un trastorno metabólico o los síntomas de una enfermedad metabólica, en un sujeto, comprendiendo el método la administración de una cantidad eficaz de dicha composición de fosfolípidos terapéutica concentrada a un sujeto que lo necesita. Los ejemplos de tales trastornos incluyen, pero sin limitación, aterosclerosis, dislipidemia, hipertrigliceridemia, hipertensión, insuficiencia cardíaca, arritmias cardíacas, niveles de HDL bajos, niveles de LDL altos, angina estable, cardiopatía coronaria, infarto agudo de miocardio, prevención secundaria del infarto de miocardio, cardiomiopatía, endocarditis, diabetes de tipo 2, resistencia a la insulina, tolerancia alterada a la glucosa, hipercolesterolemia, ictus, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemias, nefropatía crónica, claudicación intermitente, hiperfosfatemia, aterosclerosis carotídea, arteriopatía periférica, nefropatía diabética, hipercolesterolemia en la infección por VIH, síndrome coronario agudo (ACS), hepatopatía grasa no alcohólica, arteriopatías oclusivas, aterosclerosis cerebral, arterioesclerosis, trastornos cerebrovasculares, isquemia miocárdica y neuropatía autónoma diabética.

25 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de una inflamación o una enfermedad inflamatoria en un sujeto. La inflamación puede asociarse a una enfermedad inflamatoria. Las enfermedades inflamatorias pueden surgir donde haya una inflamación del tejido corporal. Estas incluyen respuestas inflamatorias e inflamación sistémica. Los ejemplos de tales enfermedades incluyen, pero sin limitación: rechazo a los trasplantes de órganos; lesión por reoxigenación resultante del trasplante de órganos (véase Grupp et al., J. Mol. Cell Cardiol. 31: 297-303 (1999)) incluyendo, pero sin limitación, trasplante de los siguientes órganos: corazón, pulmón, hígado y riñón; enfermedades inflamatorias crónicas de las articulaciones, incluyendo artritis, artritis reumatoide, osteoartritis y osteopatías asociadas al aumento de la resorción ósea; enteropatías inflamatorias, tales como ileítis, colitis ulcerosa, síndrome de Barrett y enfermedad de Crohn; neumopatías inflamatorias, tales como asma, síndrome de dificultad respiratoria adulta y enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias; enfermedades inflamatorias del ojo, incluyendo distrofia corneal, tracoma, oncocercosis, uveítis, endoftalmitis y oftalmitis simpáticas; enfermedades inflamatorias crónicas de la encía, incluyendo gingivitis y periodontitis; enfermedades inflamatorias del riñón, incluyendo complicaciones urémicas, glomerulonefritis y nefrosis; enfermedades inflamatorias de la piel, incluyendo esclerodermatitis, psoriasis y eccema; enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central, incluyendo enfermedades desmielinizantes crónicas del sistema nervioso, esclerosis múltiple, neurodegeneración relacionada con el SIDA y enfermedad de Alzheimer, meningitis infecciosa, encefalomielitis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica y encefalitis vírica o autoinmunitaria; enfermedades metabólicas, tales como la diabetes mellitus de tipo 2; la prevención de la diabetes de tipo 1; dislipidemia; complicaciones diabéticas, incluyendo, pero sin limitación, glaucoma, retinopatía, nefropatía, tal como microalbuminuria y nefropatía diabética progresiva, polineuropatía, arteriopatía coronaria aterosclerótica, arteriopatía periférica, coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico, mononeuropatías, neuropatía autónoma, problemas de las articulaciones, y una complicación de la membrana de la mucosa o la piel, tal como una infección, una mancha de espinilla, una infección por *Candida* o necrobiosis lipóidica diabética; vasculitis por complejo inmunitario, lupus eritematoso sistémico; enfermedades inflamatorias del corazón, tales como cardiomiopatía, cardiopatía isquémica, hipercolesterolemia y aterosclerosis; así como diversas enfermedades diferentes que pueden tener componentes inflamatorios significativos, incluyendo preeclampsia; insuficiencia hepática crónica, traumatismo cerebral y de la médula espinal, y cáncer. La enfermedad inflamatoria también puede ser una inflamación sistémica del organismo, representada por un choque grampositivo o gramnegativo, un choque hemorrágico o anafiláctico, o un choque inducido por la quimioterapia de cáncer en respuesta a las citocinas proinflamatorias, por ejemplo, un choque asociado a las citocinas proinflamatorias. Tal choque puede estar inducido, *por ejemplo*, por un agente quimioterapéutico que se administra como un tratamiento para el cáncer. Otros trastornos incluyen depresión, obesidad, enfermedades alérgicas, episodios cardiovasculares agudos, enfermedades de atrofia muscular y caquexia de cáncer. Además, la inflamación que resulta de las intervenciones quirúrgicas y los traumatismos puede tratarse con las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos.

60 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de la hipertrigliceridemia en los sujetos. En algunas realizaciones, la hipertrigliceridemia es una hipertrigliceridemia moderada. En algunas realizaciones, se le ha diagnosticado al sujeto una hipertrigliceridemia moderada. La hipertrigliceridemia moderada se define como un sujeto que tiene un nivel de TG de > 3,9 mmol/l (>350 mg/dl).

65 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la reducción de los niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) en plasma en ayunas en un sujeto.

En algunas realizaciones de la reducción de los niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C) en plasma en ayunas, se le ha diagnosticado al sujeto una hipertrigliceridemia moderada.

5 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para el aumento de los niveles en plasma de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) en ayunas en un sujeto. En algunas realizaciones del aumento de los niveles en plasma en ayunas del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C), se le ha diagnosticado al sujeto una hipertrigliceridemia moderada.

10 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para el aumento del índice de omega-3 (OM3I) en un sujeto. El índice de omega-3 se define como el porcentaje de EPA+DHA en los glóbulos rojos (RBC) que puede representarse mediante la fórmula: $OM3I = (EPA + DHA) / \text{Ácidos grasos totales en los RBC}$. Los bajos niveles de EPA+DHA en los eritrocitos se asocian al aumento del riesgo de muerte cardíaca súbita y pueden considerarse como un indicador del aumento de riesgo (un factor de riesgo real) de muerte por cardiopatía coronaria (Harris, 2010). En otras realizaciones, el método proporcionado eleva el índice de omega-3 (OM3I) y reduce la intolerancia a la glucosa oral (OGTT). En algunas realizaciones del aumento del índice de omega-3, se le ha diagnosticado al sujeto una hipertrigliceridemia moderada.

20 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la reducción de la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP) en un sujeto. En algunas realizaciones de la reducción de la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hs-CRP), se le ha diagnosticado al sujeto una hipertrigliceridemia moderada.

25 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de una enfermedad cardiovascular en un sujeto. Las enfermedades cardiovasculares incluyen aterosclerosis, arterioesclerosis, arteriopatía coronaria, valvulopatía cardíaca, arritmia, insuficiencia cardíaca, hipertensión, hipotensión ortostática, choque, endocarditis, enfermedades de la aorta y sus ramas, trastornos del sistema vascular periférico y cardiopatías congénitas.

30 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de un síndrome metabólico en un sujeto. El síndrome metabólico es una combinación de trastornos médicos que aumentan el riesgo de desarrollo de una enfermedad cardiovascular y diabetes. Este afecta a una de cada cinco personas y la prevalencia con la edad. Algunos estudios estiman que la prevalencia en los EE.UU. será de hasta el 25 % de la población. El síndrome metabólico también se conoce como síndrome X metabólico, síndrome X, síndrome de resistencia a la insulina, síndrome de Reaven y CHAOS (Australia).

40 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de un trastorno cognitivo, en un sujeto. La expresión "enfermedad o trastorno cognitivo", tal como se usa en el presente documento, debe entenderse que abarca cualquier enfermedad o trastorno cognitivo. Los ejemplos no limitantes de tal enfermedad o trastorno cognitivo son el trastorno por déficit de atención (ADD), trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH), dislexia, alteración de la memoria asociada a la edad y trastornos de aprendizaje, amnesia, alteración cognitiva leve, enfermedad previa a la enfermedad de Alzheimer, alteración cognitiva sin demencia, autismo, distonías y síndrome de Tourette, demencia, declive cognitivo relacionado con la edad, deterioro cognitivo, alteración mental moderada, deterioro mental como resultado del envejecimiento, afecciones que influyen en la intensidad de las ondas cerebrales y/o utilización de la glucosa cerebral, estrés, ansiedad, alteración de la concentración y la atención, deterioro del estado de ánimo, trastornos neurodegenerativos, del bienestar mental y cognitivos generales, trastornos hormonales o cualquier combinación de los mismos. En una realización específica, el trastorno cognitivo es la alteración de la memoria.

50 La expresión "mejorar una afección en un sujeto que padece una enfermedad cognitiva o un trastorno cognitivo", tal como se usa en el presente documento, debe entenderse que abarca: el alivio de los síntomas no deseados asociados a una enfermedad, trastorno o afección patológica; la prevención de la manifestación de los síntomas antes de que estos se produzcan; la disminución de la evolución de una enfermedad o trastorno; la disminución del deterioro de una enfermedad o trastorno; la disminución del daño irreversible causado en una etapa progresiva (o crónica) de una enfermedad o trastorno; el retraso de la aparición de una enfermedad o trastorno (progresivo); la reducción de la gravedad de una enfermedad o trastorno; la curación de una enfermedad o trastorno; la prevención completa de la aparición de una enfermedad o trastorno (por ejemplo, en una persona generalmente propensa a la enfermedad) o una combinación de cualquiera de los anteriores. Por ejemplo, en un sujeto que padece alteración de la memoria, por ejemplo, como resultado de la enfermedad de Alzheimer, los síntomas, incluyendo deterioro de la memoria a corto plazo espacial, memoria de evocación y/o memoria de reconocimiento, se mejoran mediante el uso de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos de lípidos.

65 También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la inhibición, la prevención o el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo en un sujeto. El trastorno neurodegenerativo se define como una neuropatía progresiva crónica caracterizada por la pérdida selectiva y generalmente simétrica de las neuronas en los sistemas motor, sensorial y cognitivo. Los ejemplos no limitantes de

trastornos neurodegenerativos incluyen, pero sin limitación, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Pick, enfermedad de Huntington-Ganglios basales y demencia del cuerpo de Lewy, enfermedad de Parkinson, atrofia dentatorubropalidoluisiana, ataxia de Friedreich, ataxia de múltiples sistemas, ataxia espinocerebelosa de tipos 1, 2, 3, 6, 7, esclerosis lateral amiotrófica de las células motoras, paraparesis espástica hereditaria, atrofia muscular espinal, atrofia muscular espinal o bulbar, enfermedad de Lou Gehrig, síndrome previo a la demencia, demencia del cuerpo de Lewy, declive cognitivo relacionado con la edad, deterioro cognitivo, alteración mental moderada, deterioro mental como resultado del envejecimiento, atrofia dentatorubropalidoluisiana, ataxia de Friedreich, ataxia de múltiples sistemas, ataxia espinocerebelosa de tipos 1, 2, 3, 6, 7, esclerosis lateral amiotrófica y paraparesis espástica hereditaria.

También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la reducción del declive de la función cognitiva global en un sujeto. En algunas realizaciones, la reducción del declive de la función cognitiva global puede medirse mediante la batería de ensayos neuropsicológicos (NTB). En algunas realizaciones, se le ha diagnosticado al sujeto una enfermedad de Alzheimer en etapa temprana.

También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para la reducción del empeoramiento de los síntomas neuropsiquiátricos en un sujeto. En algunas realizaciones, la reducción se mide mediante el cuestionario del inventario neuropsiquiátrico (NPI). En algunas realizaciones, se le ha diagnosticado al sujeto una enfermedad de Alzheimer en etapa temprana.

También se proporciona una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para su uso en métodos para el mantenimiento del cuidado personal y las actividades de la función de la vida diaria en un sujeto que padece la enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones, se le ha diagnosticado al sujeto una enfermedad de Alzheimer en etapa temprana. En algunas realizaciones, el mantenimiento del cuidado personal y las actividades de la función de la vida diaria se mide mediante la entrevista basada en el cuidador de la evaluación de discapacidad en demencia (DAD).

Los trastornos o afecciones de salud adicionales que pueden tratarse o mejorarse mediante las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos incluyen, pero sin limitación, niveles altos de colesterol en sangre, niveles altos de triglicéridos, niveles altos de fibrinógeno en sangre, relación baja de HDL/LDL, afecciones menopáusicas o posmenopáusicas, trastornos relacionados con las hormonas, trastornos de la visión, trastornos inmunitarios, hepatopatías, hepatitis crónica, esteatosis, peroxidación de lípidos, arritmia de la regeneración celular, desestabilización de las membranas celulares, presión sanguínea elevada, cáncer, hipertensión, envejecimiento, nefropatía, dermopatías, edema, gastroenteropatías, enfermedades del sistema vascular periférico, alergias, enfermedades de las vías respiratorias y enfermedades psiquiátricas.

Terapias de combinación

En algunas realizaciones, se debe administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición de fosfolípidos terapéutica concentrada. En otras realizaciones, el tratamiento debe comprender una combinación de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y agentes de tratamiento, tales como agentes antilipídicos. Los agentes antilipídicos incluyen, pero sin limitación, atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina y simvastatina.

En otras realizaciones, el tratamiento debe comprender una combinación de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y un inhibidor de la colinesterasa. Los inhibidores de la colinesterasa incluyen, pero sin limitación, metrifonato (irreversible), carbamatos, fisostigmina, neostigmina, piridostigmina, ambenonio, demarcario, rivastigmina, derivados de fenantreno, galantamina, piperidinas, donepezilo, tacrina, edrofonio, huperzina A, ladostigilo y ungeremina.

En algunas realizaciones, se debe administrar al sujeto una combinación de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y al menos uno de: vitaminas, minerales, inhibidores cox, esteroides, fibratos, antihipertensores, insulina, inhibidores de la digestión del colesterol, por ejemplo, ezetimiba, ácidos grasos, ácidos grasos omega-3, antioxidantes y la clase de compuestos de metil-fenidato, tales como, por ejemplo, ritalina. En otras realizaciones, se agota una combinación de una composición terapéutica concentrada y elementos durante los tratamientos crónicos tradicionales, tales como, por ejemplo, durante el tratamiento crónico con estatinas. Por ejemplo, en algunas realizaciones, se describe una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos que contiene al menos uno de: cox-2, ácido fólico, vitamina B6, vitamina B12, magnesio o zinc. En otras realizaciones, se describen terapias de combinación que comprenden una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y potasio. El potasio se agota normalmente durante el tratamiento con diuréticos. Las terapias de combinación reducen el riesgo de efectos secundarios, aumentan los beneficios, aumentan la solubilidad y/o aumentan la biodisponibilidad.

Modos de administración

La administración de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos puede realizarse mediante

cualquier modo de administración para agentes terapéuticos. Estos modos incluyen administración sistémica o local, tal como modos de administración oral, parenteral, transdérmica, subcutánea o tópica.

Formulaciones farmacéuticas

5 Dependiendo del modo de administración previsto, las composiciones pueden estar en forma de dosificación sólida, semisólida o líquida, tales como, por ejemplo, inyecciones, comprimidos, píldoras, cápsulas de liberación temporal, elixires, tinturas, emulsiones, jarabes, líquidos, suspensiones o similares, a veces en dosificaciones unitarias y
10 consistentes con las prácticas farmacéuticas convencionales. Asimismo, éstas también pueden administrarse en forma intravenosa (tanto en bolo como infusión), intraperitoneal, subcutánea o intramuscular, usando todas formas de dosificación bien conocidas por aquellos expertos en la materia farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas ilustrativas son comprimidos y cápsulas de gelatina que comprenden una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos pura o, si se requiere, contiene un vehículo farmacéuticamente
15 aceptable, tal como a) un diluyente, *por ejemplo*, agua purificada, aceites de triglicéridos, tales como aceites vegetales hidrogenados o parcialmente hidrogenados, o mezclas de los mismos, aceite de maíz, aceite de oliva, aceite de girasol, aceite de cártamo, lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, sodio, sacarina, glucosa y/o glicina; b) un lubricante, *por ejemplo*, sílice, talco, ácido esteárico, su sal de magnesio o de calcio, oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y/o
20 polietilen glicol; para comprimidos también; c) un aglutinante, *por ejemplo*, silicato de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, carbonato de magnesio, azúcares naturales, tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, ceras y/o polivinilpirrolidona, si se desea; d) un desintegrante, *por ejemplo*, almidones, agar, metil celulosa, bentonita, goma xantana, ácido algínico o su sal de sodio, o mezclas efervescentes;
25 e) un absorbente, colorante, aromatizante y edulcorante; f) un emulsionante o agente de dispersión, tal como Tween 80, Labrasol, HPMC, DOSS, caproyl 909, labrafac, labrafil, peceol, transcutol, capmul MCM, capmul PG-12, captex 355, gelucire, vitamina E TGPS u otro emulsionante aceptable; y/o g) un agente que potencia la absorción del compuesto, tal como ciclodextrina, hidroxipropil-ciclodextrina, PEG400, PEG200.

30 Las composiciones líquidas, particularmente inyectables, pueden prepararse, por ejemplo, mediante disolución, dispersión, etc. Por ejemplo, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos se disuelve en o se mezcla con un disolvente farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol, y similares, para formar de este modo una suspensión o solución isotónica inyectable. Se pueden usar proteínas, tales como albúmina, partículas de quilomicrones, o proteínas del suero para solubilizar la composición de
35 fosfolípidos terapéutica concentrada.

Otras preparaciones tópicas ilustrativas incluyen cremas, ungüentos, lociones, pulverizadores de aerosol y geles, en los que la concentración de la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos varía de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 15 %, p/p o p/v.

40 *Dosificación*

La pauta de dosificación para utilización de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos se selecciona de acuerdo con una diversidad de factores que incluyen el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y el
45 estado médico del sujeto; la gravedad de la afección a tratar; la vía de administración; la función renal o hepática del sujeto; y la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos particular empleada. Un médico o veterinario con experiencia habitual en la materia puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad eficaz del fármaco requerido para prevenir, contrarrestar o detener la evolución de la afección.

50 Las cantidades de dosificación eficaces de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, varían de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 10.000 mg de la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos al día. Las dosificaciones para uso in vivo o in vitro pueden contener aproximadamente 20, 50, 75, 100, 150, 250, 500, 750, 1.000, 1.250, 2.500, 3.500, 5.000, 7.500 o 10.000 mg de la composición de fosfolípidos terapéutica concentrada. Los niveles de plasma en sangre eficaces después de la administración de la composición
55 terapéutica concentrada en fosfolípidos a un sujeto, puede variar de aproximadamente 0,002 mg a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal al día. Las dosificaciones adecuadas de la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos pueden determinarse tal como se expone en L.S. Goodman, et al., The Pharmacological Basis of Therapeutics, 201-26 (5ª ed., 1975).

60 Las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos pueden administrarse en una única dosis diaria, o la dosificación diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día. Para administrarse en forma de un sistema de administración transdérmica, la administración de la dosificación puede ser continua en lugar de intermitente durante toda la pauta de dosificación. En algunas realizaciones, de terapia de combinación, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y el agente terapéutico pueden administrarse simultáneamente.
65 En otras realizaciones, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos y el agente terapéutico pueden administrarse secuencialmente. En aún otras realizaciones de terapia de combinación, la composición terapéutica

concentrada en fosfolípidos puede administrarse diariamente y el agente terapéutico puede administrarse en una frecuencia inferior a la diaria. En aún otras realizaciones de terapia de combinación, la composición terapéutica concentrada en fosfolípidos puede administrarse diariamente y el agente terapéutico puede administrarse más de una vez al día.

Ejemplos

La divulgación se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que no deben interpretarse como limitantes de la presente divulgación en alcance o espíritu de los procedimientos específicos descritos en el presente documento. Debe entenderse que los ejemplos se proporcionan para ilustrar determinadas realizaciones y que no se pretende de este modo limitar el alcance de la divulgación. Los ejemplos que no se encuentren dentro del alcance de las reivindicaciones tienen fines únicamente ilustrativos.

Composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos

Los siguientes métodos pueden usarse para preparar las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos (Figura 1A y 1B).

Etapas 1:

El camarón antártico congelado se tritura mecánicamente y se incuba con un disolvente en una relación de agua respecto a acetona de 9:1 durante 60-90 minutos a 8 °C para extraer diferentes proporciones de los lípidos (PL, TG y FFA) de la biomasa de camarón antártico. Los lípidos se separan posteriormente de las proteínas y el material de camarón antártico mediante filtración a presión (50-60 KPa). La fase sólida se desecha. El extracto soluble se evapora mediante una columna de destilación continua al vacío para retirar el disolvente (acetona). La parte principal de la fracción acuosa (agua) se separa de la fracción de lípidos mediante decantación y el agua restante se retira mediante evaporación al vacío y calentamiento suave. Aquellas fracciones se dosifican, analizan y combinan para constituir un producto de aceite de camarón antártico intermediario que se vuelve a analizar para lograr las especificaciones deseadas de ± 5 %: EPA (15 g/100 g), DHA (9 g/100 g), fosfolípidos totales (42 g/100 g) y formas de astaxantina (125 mg/100 g).

Etapas 2:

Se cargaron 100,5 g del aceite de camarón antártico recibido a partir de la Etapa 1 en un recipiente de extracción de 300 ml (DI = 0,68"). Se selló el extractor, se introdujo CO₂ precalentado a 55 °C desde la parte inferior y se mantuvo la presión en el extractor a 5.000 psi usando una bomba de diafragma de CO₂. El flujo de CO₂ se mantuvo en la dirección de flujo ascendente a través del extractor y se expandió hasta presión atmosférica a través de una válvula de reducción de presión (PRV), de manera que el material disuelto en el CO₂ precipitó y se recogió en el matraz. El caudal y el volumen de CO₂ que existe en el matraz se midió con un medidor de caudal y un medidor de ensayo en seco (DTM). Se hizo pasar un total de 7.200 g de CO₂ a través del extractor (relación de disolvente respecto a alimentación, S/F = 72) y el CO₂ retiró el 34,1 % de la carga. El flujo de aproximadamente 25 litros/min convencional de CO₂ se mantuvo durante el transcurso del ensayo y el tiempo total de extracción fue de aproximadamente 160 min. El extractor se aisló y el CO₂ se ventilo a la atmósfera. El extractor se abrió y el material sin extraer (producto de residuo de refinado) se retiró del recipiente.

Etapas 3:

Extracción de CO₂ de SC para producir el 90 % de OM3:PLs. Se mezclaron 9,44 g de aceite con un empaquetado inerte y se cargaron en el extractor. El procedimiento llevado a cabo fue similar al descrito en la Etapa 2, excepto que se usaron condiciones de extracción más agresivas con la presión y la temperatura en el extractor mantenidas a 10.000 psi y 70 °C. Se usó una relación total de S/F de 200; por lo tanto, se fluyeron aproximadamente 1.900 g de CO₂ a través del extractor. Se mantuvo un caudal de CO₂ de aproximadamente 10 litros/min convencional; por lo tanto, el tiempo de ejecución total para este ensayo fue de 105 min. Se extrajo un total del 56,3 % de la carga de este aceite durante el transcurso de la ejecución. Se aisló el extractor, se ventilo el CO₂ a la atmósfera, se abrió el recipiente y el producto de residuo de refinado resultante se retiró por raspado del empaquetado inerte. Se analizó este material sin extraer para que fuera OM3:PLs al 91 %.

Composición de referencia 1

OM3:PL al 47 %			
*Lípidos totales como FA _{TG}	g/100 g de aceite	61,3	(100)
*Omega-3	g/100 g de aceite	14,1	(22,5)
*EPA	g/100 g de aceite	7,4	(11,6)
*DHA	g/100 g de aceite	3,8	(6,1)
*DPA	g/100 g de aceite	0,2	(0,3)
*Omega-6	g/100 g de aceite	10,8	(18,3)
*Ácido linoleico	g/100 g de aceite	10,6	(18,0)
*Omega-9	g/100 g de aceite	6,6	(11,6)
*Ácido oleico	g/100 g de aceite	6,1	(10,8)
*FA _{lg} sat.	g/100 g de aceite	21,4	(36,1)
*FA _{TG} monoinsat.	g/100 g de aceite	13,9	(23,1)
*TG poliinsat.	g/100 g de aceite	26,0	(40,7)
*EPA como FA _{lg}	g/100 g de aceite	7,7	
*DHA como FA _{lg}	g/100 g de aceite	3,9	
Agua	%	0,8	
Color	-	Naranja rojizo	
Olor	-	Ligeramente rancio	
Carotenoides totales	mg/100 g de aceite	36,0	
Astaxantina	mg/100 g de aceite	65,3	
Astaxantina	% de diéster	83,1	
	% de monoéster	16,9	
	% libre	0,0	
Índice de peróxido	mEq de peróxido/kg	1,0	
Índice de p-anisidina	-	2,0	
Índice de yodo	gl ₂ /100 g de aceite	101,1	
Índice de saponificación	mg de KOH/g de aceite	214,1	
Índice de ácido	mg de KOH/g de aceite	17,2	
Grasa total	%		
Ácido graso libre	% como ácido oleico	5,2	
Triglicéridos	%	36,5	
Viscosidad	cP	1.323,0	
Ceniza	%	5,0	
Vitamina A	UI/g de aceite	40,4	
Vitamina E	UI/g de aceite	0,1	
Fosfolípidos totales	g/100 g de aceite	47,2	
Perfil de fosfolípidos	TLC	-	
	% de LPC	3,7	
	% de PC	53,6	
	% de PS	24,7	
	% de PE	16,4	
	% de PA	1,7	
Masa molecular de PL	g/mol	773,8	

Composición de referencia 2

OM3:PL al 53 %		
*Lípidos totales como ácidos grasos (FA) TG	g/100 g de aceite	69,80
Omega-3 total	g/100 g de aceite	31,30
EPA C 20:5 (n=3)	g/100 g de aceite	13,90
DHA C 22:6 (n=3)	g/100 g de aceite	10,10
DPA C 22:5 (n=3)	g/100 g de aceite	0,40
Omega-6 total	g/100 g de aceite	1,60
ácido linoleico - LA	g/100 g de aceite	1,30
Omega-9 total	g/100 g de aceite	6,10
ácido oleico - OA	g/100 g de aceite	5,70
FA saturado	g/100 g de aceite	21,10
FA monoinsaturado	g/100 g de aceite	14,50
FA poliinsaturado	g/100 g de aceite	34,20
EPA como FA	g/100 g de aceite	14,40
DHA como FA	g/100 g de aceite	10,50
PERFIL DE FOSFOLÍPIDOS		
total	g/100 g de aceite	52,30
lisofosfatidilcolina - LPC	%	10,80
esfingomielina - SM	%	0,10
fosfatidilcolina - PC	%	79,70
fosfatidilserina - PS	%	
fosfatidilinositol - PI	%	
fosfatidiletanolamina - PE	%	9,40
PA	%	0,00
CAROTENOIDES		
total	mg/100 g de aceite	92,60
astaxantina total - AST	mg/100 g de aceite	161,60
diéster de AST		62,00
monoéster de AST		35,00
AST libre		3,00

Composición 3

OM3:PL al 66 %		
*Lípidos totales como ácidos grasos (FA) TG	g/100 g de aceite	74,2
Omega-3 total	g/100 g de aceite	39,8
EPA C 20:5 (n=3)	g/100 g de aceite	21,7
DHA C 22:6 (n=3)	g/100 g de aceite	14,1
DPA C 22:5 (n=3)	g/100 g de aceite	0,5
Omega-6 total	g/100 g de aceite	1,7
ácido linoleico - LA	g/100 g de aceite	1,3
Omega-9 total	g/100 g de aceite	5,8
ácido oleico - OA	g/100 g de aceite	5,1
FA saturado	g/100 g de aceite	18,0
FA monoinsaturado	g/100 g de aceite	13,2
FA poliinsaturado	g/100 g de aceite	43,1
EPA como FA	g/100 g de aceite	22,6
DHA como FA	g/100 g de aceite	14,6
PERFIL DE FOSFOLÍPIDOS		
total	g/100 g de aceite	66,2
lisofosfatidilcolina - LPC	%	10,7
fosfatidilcolina - PC	%	75,3
fosfatidiletanolamina - PE	%	11,8
otros	%	2,2
CAROTENOIDES		
total	mg/100 g de aceite	273,4
astaxantina total - AST	mg/100 g de aceite	466,8
diéster de AST	%	57,4
monoéster de AST	%	40,7
AST libre	%	1,9

Composición de referencia 4

OM3:PL al 80 %		
*Lípidos totales como ácidos grasos (FA) TG	g/100 g de aceite	68,35
Omega-3 total	g/100 g de aceite	37,90
EPA C 20:5 (n=3)	g/100 g de aceite	20,40
DHA C 22:6 (n=3)	g/100 g de aceite	12,95
DPA C 22:5 (n=3)	g/100 g de aceite	0,48
Omega-6 total	g/100 g de aceite	1,45
ácido linoleico - LA	g/100 g de aceite	1,26
Omega-9 total	g/100 g de aceite	4,93
ácido oleico - OA	g/100 g de aceite	4,35
FA saturado	g/100 g de aceite	16,15
FA monoinsaturado	g/100 g de aceite	11,21
FA poliinsaturado	g/100 g de aceite	40,99
EPA como FA	g/100 g de aceite	21,30
DHA como FA	g/100 g de aceite	13,50
PERFIL DE FOSFOLÍPIDOS		
total	g/100 g de aceite	80,00
lisofosfatidilcolina - LPC	%	9,20
esfingomielina - SM	%	0,20
fosfatidilcolina - PC	%	80,60
fosfatidilserina - PS	%	1,10
fosfatidilinositol - PI	%	0,10
fosfatidiletanolamina - PE	%	7,50
PA	%	1,30
CAROTENOIDES		
total	mg/100 g de aceite	180,4
astaxantina total - AST	mg/100 g de aceite	325,5
diéster de AST	%	68,45
monoéster de AST	%	29,27
AST libre	%	2,28

Composición de referencia 5

OM3:PL al 90%		
*Lípidos totales como FA _{TG}	g/100 g de aceite	63,9
*Omega-3	g/100 g de aceite	35,1
*EPA	g/100 g de aceite	18,9
*DHA	g/100 g de aceite	12,2
*DPA	g/100 g de aceite	0,5
*Omega-6	g/100 g de aceite	1,3
*Ácido linoleico	g/100 g de aceite	1,2
*Omega-9	g/100 g de aceite	4,6
*Ácido oleico	g/100 g de aceite	3,9
*FA _{tg} sat.	g/100 g de aceite	15,8
*FA _{TG} monoinsat.	g/100 g de aceite	10,2
*TG poliinsat.	g/100 g de aceite	37,9
*EPA como FA _{tg}	g/100 g de aceite	19,7
*DHA como FA _{tg}	g/100 g de aceite	12,7
Acetona	Ppm	1,6
Humedad y volátiles	%	1,7
Agua	%	1,9
Color	-	Chile rojo
Olor	-	Molusco
Carotenoides totales	mg/100 g de aceite	168,9
Astaxantina	mg/100 g de aceite	309,3
Astaxantina	% de diéster	73,1
	% de monoéster	25,3
	% libre	1,6
Índice de p-anisidina	-	3,1
Índice de ácido	mg de KOH/g de aceite	33,6
Índice de yodo	gI ₂ /100 g de aceite	
Índice de saponificación	mg de KOH/g de aceite	
Índice de peróxido	mEq de peróxido/kg	0,1
Vitamina A	UI/g de aceite	15,2
Vitamina E	UI/g de aceite	0,3
Ácido graso total	%	97,6
Viscosidad	cP	
Fosfolípidos totales	g/100 g de aceite	90,6
Perfil de fosfolípidos	TLC	-
	% de LPC	13,5
	% de SM	0,4
	% de PC	76,3
	% de otros PL	1,2
	% de PE	7,9
	% de PA	0,8
Triglicéridos	%	0,0

Composición de referencia 6

OM3:PL al 70 % derivado de camarón		
*Lípidos totales como FA _{TG}	g/100 g de aceite	54,5
*Omega-3	g/100 g de aceite	29,1
*EPA	g/100 g de aceite	8,9
*DHA	g/100 g de aceite	18,3
*DPA	g/100 g de aceite	0,2
*Omega-6	g/100 g de aceite	0,7
*Ácido linoleico	g/100 g de aceite	0,3
*Omega-9	g/100 g de aceite	4,2
*Ácido oleico	g/100 g de aceite	2,0
*FA _{lg} sat.	g/100 g de aceite	16,9
*FA _{TG} monoinsat.	g/100 g de aceite	6,8
*TG poliinsat.	g/100 g de aceite	30,9
*EPA como FA _{lg}	g/100 g de aceite	9,3
*DHA como FA _{lg}	g/100 g de aceite	19,1
Humedad (camarón)	%	
Índice de ácido	mg de KOH/g de aceite	55,7
Vitamina A	UI/g de aceite	
Vitamina E	UI/g de aceite	
Ácido graso total	%	2,7
Carotenoides totales	mg/100 g de aceite	8,3
Astaxantina	mg/100 g de aceite	13,2
Astaxantina	% de diéster	42,5
	% de monoéster	35,6
	% libre	21,9
Fosfolípidos totales	g/100 g de aceite	70,8*
Perfil de fosfolípidos	TLC	-
	% de LPC	12,4
	% de SM	7,8
	% de PC	55,8
	% de otros	2,0
	% de PE	22,0
	% de PA	6,4
Triglicéridos	%	25,0
Ácido graso libre	% como ácido oleico	3,2
Índice de p-anisidina	-	4,3
Índice de peróxido	mEq de peróxido/kg	0,6
**Fosfolípidos PM (g/mol)		847,14
<i>Perfil de ácidos grasos de los PL</i>		
*Lípidos totales como FA	g/100 g de PL	53,9
*Omega-3	g/100 g de PL	28,6

(continuación)

OM3:PL al 70 % derivado de camarón		
*EPA	g/100 g de PL	9,0
*DHA	g/100 g de PL	18,3
*DPA	g/100 g de PL	0,2
*Omega-6	g/100 g de PL	0,5
*Ácido linoleico	g/100 g de PL	0,2
*Omega-9	g/100 g de PL	3,6
*Ácido oleico	g/100 g de PL	1,5
*FA sat.	g/100 g de PL	18,3
*FA monoinsat.	g/100 g de PL	5,4
*FA poliinsat.	g/100 g de PL	30,2

Ejemplos biológicos

5

Ejemplo 1**Control de la dislipidemia en tres fenotipos murinos.**

- 10 El objeto del presente estudio fue examinar los efectos de la Composición 3 en tres fenotipos murinos de edad/sexo parecidos representativos de ratones (1) (C57BL6) de control normoglucémicos no obesos sanos normales frente a (2) (LDLr -/-) con genes inactivados receptores de la LPL hiperdislipidémicos o (3) transgénicos de la apoA-I humana (Jackson Labs) a las 12 semanas de edad: 27,5±0,7 frente a 25,6±0,7 frente a 29,2±0,8 gr., respectivamente; n=7-10/gr. mantenidos según las regulaciones éticas locales y nacionales, alimentados con un régimen alimentario normal frente a uno occidental y agua *ad libitum*. Los datos se presentan como Media±EEM y las diferencias estadísticas se evalúan mediante el ensayo t (sin emparejar, de dos colas) (v5-GraphPad Prism).

El perfil de las concentraciones de lípidos en plasma (mg/dl) en los tres modelos murinos machoadultos sin tratar anteriores fue tal como se indica en la bibliografía: colesterol total (TC): 71,1±3,3 frente a 215,3±10,4 frente a 50,3±1,3; triglicéridos (TG): 59,5±4,5 frente a 65. 3,8 frente a 53,0±12,9; lipoproteína de baja densidad (LDL): 13,3±1,2 frente a 101,6±6,7 frente a 12,2±1,6; lipoproteína de alta densidad (HDL): 53,4±3,2 frente a 88,8±3,6 frente a 24,8±2,6. Seis (6) semanas de tratamiento QD con la Composición 3 (104 frente a 208 frente a 417 mg/kg (dosificación equivalente humana de 500, 1.000 y 2.000 mg/día) en C57BL6 condujeron a una disminución dependiente de la dosis significativa en los TG en plasma (hasta el 60 %), redujo las LDL (hasta el 28 %), elevó las HDL (en un 17 %), pero no afectó al TC (véanse las Figuras 2-12 y la Tabla 1). En ratones LDLr-KO gravemente dislipidémicos, la Composición 3 condujo a una disminución dependiente de la dosis significativa en los TG en plasma, elevó adicionalmente las HDL, causó una ligera elevación en el TC (solo en dosis media) y no afectó a las LDL (véanse las Figuras 13-17 y la Tabla 1). En los ratones transgénicos hApoA-I, la Composición 3 condujo a una disminución significativa de los TG en plasma, elevó las HDL y no afectó al TC (véanse la Figura 18 y la Tabla 1). Las concentraciones en hígado de TC fueron las mismas en todos los tres fenotipos, pero los TG se redujeron (19 %, p<0,05) en LDLr-KO y se elevaron (153 %; p<0,01) en hApoA-I, en comparación con el C57BL6 de control. El tratamiento con la Composición 3 elevó el TC y los TG en plasma hasta el 12 % y el 27 %, respectivamente, en C57BL6, hasta el 10 % y el 36 % en LDLr-KO y hasta el 10 % de TC, pero mezcló los efectos de los TG (del -13 al +12 %) en los ratones hApoA-I, respectivamente (véase la Tabla 2).

35

Tabla 1: Efectos que intervienen en el tratamiento de 6 semanas con la Composición 3 sobre los lípidos en plasma.

Fenotipo murino	Lípidos en plasma	Dosis baja de 104 mg/kg (HED: 500 mg/día)	Dosis media de 208 mg/kg (HED: 1.000 mg/día)	Dosis alta de 417 mg/kg (HED: 2.000 mg/día)
C57BL6	TC	75,9±2,0 hasta el 6,8 % (NS)	80,6±3,3 hasta el 13,4 % (NS)	78,1±2,7 hasta el 9,8 % (NS)
	TG	32,2±1,6 hasta el 46 % (p<0,001)	26,0±2,8 hasta el 56 % (p<0,001)	23,8±1,2 hasta el 60 % (p<0,001)
	LDL	11,1±1,4 hasta el 15 % (NS)	11,2±1,0 hasta el 16 % (p≤0,05)	9,6±0,7 hasta el 28 % (p<0,05)
	HDL	59,4±1,9 hasta el 11 % (NS)	63,4±3,5 hasta el 19 % (NS)	62,3±2,4 hasta el 17 % (p<0,05)
LDLr-KO	TC	219,3±7,4 hasta el 2 % (NS)	244,4±7,9 hasta el 14 % (p<0,01)	238,5±6,9 hasta el 11 % (NS)
	TG	45,7±2,8 hasta el 30 % (p<0,001)	41,7±4,9 hasta el 36 % (p<0,01)	36,7±1,6 hasta el 44 % (p<0,001)
	LDL	99,2±5,7 hasta el 2 % (NS)	116,2±4,4 hasta el 14 % (NS)	97,4±6,5 hasta el 4 % (NS)
	HDL	90,9±2,5 hasta el 2 % (NS)	88,4±4,6 = (NS)	111,2±2,5 hasta el 25 % (p<0,001)
hApoA-I transgénico	TC	51,1±1,5 hasta el 2 % (NS)	57,2±2,6 hasta el 14 % (p<0,05)	50,1±1,4 = (NS)
	TG	19,3±2,8 hasta el 64 % (p<0,05)	43,2±11,7 hasta el 18 % (NS)	43,0±8,2 hasta el 19 % (NS)
	LDL	10,8±1,0 hasta el 11 % (NS)	12,8±2,3 = (NS)	13,9±1,0 hasta el 14 % (NS)
	HDL	27,9±2,4 hasta el 13 % (NS)	28,6±2,6 hasta el 15 % (NS)	21,6±12,8 hasta el 13 % (NS)
NS; no significativo				

5

Tabla 2: Lípidos en plasma en el momento basal entre los fenotipos murinos

Concentraciones en plasma (mg/dl)	C57BL6 de control	LDLr-KO	Variación frente a control	hApoA-I transgénico	Variación frente a control
colesterol total (TC)	71,1±3,3	215,3±10,4	hasta 3 veces p<0,001	50,3±1,3	hasta el 29,3 % de NS
triglicéridos (TG)	59,5±4,5	65,1±3,8	hasta el 9,4 % de NS	53,0±12,9	hasta el 10,9 % de NS
lipoproteína de baja densidad (LDL-C)	13,3±1,2	101,6±6,7	hasta 7,6 veces p<0,001	12,2±1,6	hasta el 8,3 % de NS
lipoproteína de alta densidad (HDL-C)	53,4±3,2	88,8±3,6	hasta el 166 % de p<0,001	24,8±2,6	hasta el 54 % de p<0,001
concentraciones en hígado (µg/mg)					
colesterol total (TC)	23,1±0,8	23,6±0,6	= (NS)	25,1±0,5	hasta el 9 % (NS)
triglicéridos (TG)	53,0±3,1	42,9±2,1	hasta el 19 % de p<0,05	81,3±7,4	hasta el 153 % de p<0,001
NS; no significativo					

Estos datos indican que la Composición 3 es un modulador eficaz del metabolismo de lípidos, principalmente en la reducción de los TG y de las LDL en plasma y la elevación de las HDL. Estos datos indican que, en algunas realizaciones, las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos pueden ser eficaces como terapia contra la hipertrigliceridemia moderada a grave. En algunas realizaciones, las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos en combinación con otros agentes antidislipidémicos pueden ser eficaces en la disminución de la hipertrigliceridemia refractaria.

10

Ejemplo 2**Aumento de la concentración en plasma en circulación del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) y reducción de la relación de colesterol total (TC)/HDL en ratas Zucker grasas diabéticas macho de 12 semanas de edad.**

El fin del presente estudio fue examinar los efectos de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos en un modelo de roedores, ratas Zucker obesas diabéticas, en cuanto a la diabetes tipo 2 con obesidad, hiperlipidemia y resistencia a la insulina (ZDF; Gmi-fa/fa) frente a ratas SD de control delgadas normoglucémicas no obesas sanas normales de edad y sexo parecidos (a través de Charles River Labs; 12 semanas de edad, 359±17 frente a 439±13 gr.; n=9-12/gr.). El perfil de lípidos, colesterol total (TC), triglicéridos (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) y relación TC/HDL se evaluaron antes, 1 y 2 meses después del tratamiento QD con la Composición 3 (52 frente a 260 mg/kg (HED de 500 y 2.500 mg)) y se mantuvieron según las regulaciones éticas locales y nacionales (régimen alimentario Formulab 5008 (ZDF) alto en grasas frente a 5001 (SD) normal y agua *ad libitum*). Los datos se presentan como Media±DE (n=2-10) y las diferencias estadísticas se calculan mediante el ensayo t de dos colas sin emparejar (v5-GraphPad Prism). A las 12 semanas de edad, las concentraciones en plasma en circulación de TC, TG, HDL y la relación de TC/HDL fueron: 4,6±0,9, 11,6±5,9, 2,3±1,1 mmol/l y 2,16±0,62, respectivamente. El perfil de lípidos en ratas SD se disminuyó a 1,9±0,4, 1,2±0,4, 1,3±0,2 mmol/l y 1,45±0,11, respectivamente. El tratamiento de dosis baja y alta diarias durante 60 días no afectó a las concentraciones de TC y TG, pero aumento de 1,7 a 1,8 veces (p<0,01) el colesterol de HDL "bueno" y disminuyó la relación de TC/HDL en 26-32 % (p<0,01-0,05), respectivamente.

Ejemplo 3**Mejora de la intolerancia a la glucosa en ratas Zucker obesas diabéticas después de la administración de la Composición 3.**

El fin del presente estudio fue investigar los efectos de la Composición 3 en un modelo de rata claramente con diabetes tipo 2, obesa y dislipidémica. Se usaron ratas Zucker obesas diabéticas (ZDF; Gmi-fa/fa) frente a ratas SD de control delgadas normoglucémicas no obesas sanas normales de edad y sexo parecidos (a través de Charles River Labs; 12 semanas de edad, 359±17 frente a 439±13 gr.; n=9-12/gr.). La intolerancia a la glucosa se evaluó realizando un ensayo de tolerancia a la glucosa oral (OGTT; durante una noche en ayunas, después, una única sonda de glucosa a 2 g/kg por peso corporal de rata) durante 180 minutos usando tiras de glucómetro (Accu-Chek Aviva, Roche Diagnostics), antes y 90 días después del tratamiento con la Composición 3 dada mediante sonda QD en 52 frente a 260 mg/kg (HED de 500 y 2.500 mg) y se mantuvo según las regulaciones éticas locales y nacionales (régimen alimentario Formulab 5008 (ZDF) alto en grasas frente a 5001 (SD) normal y agua *ad libitum*). Los datos se presentan como Media±DE y las diferencias estadísticas se calculan mediante el ensayo t de dos colas sin emparejar (v5-GraphPad Prism).

A las 12 semanas de edad (T0), las concentraciones en plasma en circulación en ayunas de glucosa fueron 7,8±2,1 frente a 5,0±0,6 mmol/l (p<0,001) en las ratas ZDF frente a SD. Los niveles de glucosa en ratas ZDF y SD no en ayunas fueron 22,0±4,2 frente a 8,6±0,6 mmol/l, respectivamente. Un mes después, los valores del momento basal aumentaron 1,9 veces (p<0,0001) en las ZDF en ayunas, mientras que permanecieron sin cambios en las SD en ayunas. El envejecimiento no afectó a los niveles de glucosa en ratas no en ayunas. La prueba de la glucosa condujo a un aumento máximo de 2,5 veces (p<0,0001) y 1,6 veces en las concentraciones de glucosa en plasma en las ratas ZDF y SD en ayunas sin tratar, a los 30 y 60 minutos, respectivamente, volviendo en gran parte a los valores iniciales después de 180 minutos. A las 16 semanas de edad, los treinta días (T30) de tratamiento no afectaron al perfil (AUC) ni a la elevación máxima de la glucosa en las ratas SD, pero el tratamiento de ZDF desplazó a la derecha la elevación máxima de la glucosa en plasma (de 30 a 60 minutos), redujo un 61-72 % (p<0,02) la elevación de pico a los 30 minutos y redujo un 50-60 % (p<0,0001) el AUC en cualquiera de las dosis de la Composición 3, volviendo así al AUC observado en las ratas SD con la prueba de glucosa no tratadas. A las 20 semanas de edad, 60 días de tratamiento, cualquier dosificación no atenuó adicionalmente la intolerancia a la glucosa. Ningún perfil de tratamiento afectó a las concentraciones urinarias y en plasma de la glucosa (hiperglucemia y glucosuria) en ZDF o SD no en ayunas. Estos datos indican que una administración crónica de dosis baja y a corto plazo de la Composición 3 mejora significativamente el control glucémico en un modelo de hiperglucemia grave.

Ejemplo 4**Ensayo aleatorio, controlado por placebo, de doble ciego, de dosis variable y multicéntrico para evaluar la seguridad y la eficacia de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos en el tratamiento de la hipertrigliceridemia moderada.**

Los sujetos con hipertrigliceridemia moderada, tratados por el médico según las guías de tratamiento de lípidos canadiense, se tratan durante 12 semanas con fosfolípidos concentrados dados en dosis de 1,0, 2,0 o 4,0 g. La medida de eficacia primaria será el cambio de porcentaje en los triglicéridos (TG) en suero en circulación en sangre

en ayunas entre el momento basal (Semana 1) y 12 semanas de tratamiento. Resultados secundarios: entre el momento basal y después de seis semanas y 12 semanas de tratamiento: 1) cambio absoluto en los TG en plasma en ayunas; 2) porcentaje (%) de sujetos que logran los niveles diana en plasma en ayunas de TG; 3) cambio absoluto en el plasma en ayunas de LDL-C, VLDL-C, HDL-C, HDL2-C, HDL3-C, colesterol total, hs-CRP y no de HDL; 4) cambio de porcentaje (%) en las concentraciones en plasma en ayunas de LDL-C, VLDL-C, HDL-C, HDL2-C, HDL3-C, TC, hs-CRP y no de HDL; 5) relaciones calculadas: a) colesterol total : HDL-C; b) LDL-C : HDL-C; c) TG : HDL-C; 6) parámetros relacionados con el LDL-C: a) número de partículas; b) tamaño de partículas; c) oxidación; 7) cambio absoluto y de porcentaje (%) en las concentraciones en plasma en ayunas de bioindicadores; a) hemoglobina glicada (HbA1c), b) apolipoproteína A-I (ApoA-I), c) apolipoproteína B-100 (ApoB-100), d) apolipoproteína E (ApoE), e) lipoproteína(a) (Lp(a)), f) adiponectina, g) glucosa, h) insulina; 8) relación de ApoB : ApoA-I calculada; 9) actividad de la fosfolipasa A2 asociada a las proteínas (Lp-PLA2) en plasma en ayunas; 10) HOMA-IR (evaluación de modelo de homeostasis de resistencia a la insulina: [glucosa (mmol/l) x IRI (microIU/l) / 22,5]; 11) concentraciones en plasma de EPA y DHA total (PK/PD - 25 sujetos/grupo); 12) OM3I (índice de omega-3); 13) polimorfismo genético de los sujetos: a) lecitina colesterol acil transferasa (LCAT), b) proteína de transferencia de éster de colesterol (CETP), c) receptor neutralizante tipo B-I (SR-BI), d) transportador 1 de casete de unión a ATP (ABCA1).

Ejemplo 5

20 Evaluación preclínica no de GLP de la eficacia de las composiciones terapéuticas concentradas en fosfolípidos solas o en combinación con una estatina sobre la modulación de los lípidos en sangre y el desarrollo de lesiones ateroscleróticas en ratones con ApoE nula alimentados con una dieta de tipo occidental.

25 A los ratones adultos macho (n=T35 (15 ratones/grupo) de 5-6 semanas de edad) que pesan aproximadamente 18-20 g cada uno homocigótico para la mutación de ApoetmlUnc se les administra HOW o bien un vehículo (agua o carboximetilcelulosa al 0,2 %-0,5 %); Composición 3 (1.000 mg/al día de HED); Composición 3 (2.000 mg/al día de HED); o Lipitor (20 mg/al día de HED); o Composición 3 (1.000 mg/al día de HED) + Lipitor (20 mg/al día de HED). A los 0, 3 meses o 6 meses, se realizó la siguiente evaluación con respecto a: lípidos en sangre: TC, TG, LDL, HDL, 30 no de HDL, VLDL (0, 3 y 6 meses) (2) aterosclerosis aórtica (0, 3 y 6 meses): a. la aorta torácica y abdominal se aislarán, reducirán de grasas, colocarán y anclarán sobre la matriz de color negro para fotografía y se teñirán con Sudan IV u Oil Red-O. b. se tomarán imágenes del recipiente para determinar la implicación de la superficie usando un sistema de análisis de imágenes informatizado (Image ProPlus o NIH Package Software). Los datos se informatizarán por grupo y se analizarán estadísticamente. c extracción de lípidos: después de la tinción y del 35 análisis morfológico, se extraerán las aortas (Bligh Dyer). (3) índice de omega-3 en glóbulos rojos (0, 3 y 6 meses); (4) concentración en plasma en circulación de CRP (0, 3 y 6 meses).

Ejemplo 6

40 Comparación de la Composición 3 con Lovaza® sobre el índice de omega-3.

Las ratas adultas macho (14 semanas) Sprague-Dawley (SD) con un peso corporal promedio de >375-425 se alimentaron con pienso para ratas normal (5075 normal, dietético, pienso para ratas convencional). Número de sujetos de ensayo/grupo: n=56; n=8 ratas/gr. La dosificación fue QD (dosificación diaria unitaria/mañana) durante 12 45 semanas con (i) Vehículo y (ii) Composición 3 de 52 mpk de 500 mg/día de HED; (iii) Composición 3 de 104 mpk de 1.000 mg/día de HED; (iv) Composición 3 de 416 mpk de 4.000 mg/día de HED; (v) Lovaza® de 416 mpk = 4.000 mg/día de HED. Los resultados se muestran en la Figura 35.

Ejemplo 7

50 Estudio de monoterapia de fosfolípidos concentrados en la enfermedad de Alzheimer en etapa temprana.

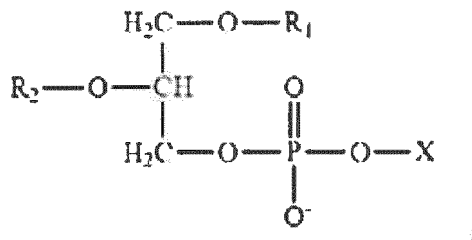
Los sujetos se asignarán aleatoriamente para recibir ya sea 1 g de la composición de fosfolípidos terapéutica concentrada, 1 g de aceite de pescado (135 mg de EPA: 108 mg de DHA) o 1 g de placebo (aceite de soja) una vez 55 al día. La medida de resultado primario será el cambio en NTB entre el momento basal y 24 semanas de tratamiento. La batería de ensayos neuropsicológicos (NTB) se usará para controlar y evaluar cambios cognitivos importantes. Los siguientes 9 componentes de la NTB se usan para determinar el resultado para el sujeto: (1) escala de memoria de Wechsler, inmediata visual (intervalo de puntuación, 0-18), (2) escala de memoria de Wechsler, inmediata verbal (intervalo de puntuación, 0-24), (3) ensayo de aprendizaje verbal auditivo de Rey (RAVLT), inmediato (intervalo de puntuación, 0-105), (4) amplitud de memoria numérica de Weschler (intervalo de puntuación, 0-24), (5) ensayo de 60 asociación controlada de palabras (COWAT), (6) ensayo de fluidez por categorías (CFT), (7) escala de memoria visual tardía de Wechsler (intervalo de puntuación, 0-6), (8) escala de memoria verbal tardía de Wechsler (intervalo de puntuación, 0-8) y (9) RAVLT tardío (intervalo de puntuación, 0-30) (Harrison et al., 2007). La medida del RAVLT tardío se compone de componentes de rendimiento de reconocimiento y evocación tardía que se suman para 65 producir una puntuación que varía de 0 a 30, produciendo 9 medidas de rendimiento del sujeto. Las medidas de resultado secundario incluirán el cambio en el NPI y DAD a las 24 semanas de tratamiento. El NPI evalúa 12

- 5 perturbaciones neuropsiquiátricas comunes en la demencia: delirio confusional, alucinaciones, nerviosismo, disforia, ansiedad, desidia, irritabilidad, euforia, desinhibición, comportamiento motor aberrante, perturbaciones del comportamiento nocturnas y anomalías del apetito y la alimentación. El DAD es un instrumento de entrevista basada en el cuidador usado para evaluar las actividades instrumentales y básicas de la vida diaria en la demencia (higiene, vestirse, desvestirse, continencia, alimentación, preparación de comidas, llamar por teléfono, dar paseos, financiación, correspondencia, medicación, ocio y labores domésticas). El NPI también evalúa la cantidad de dificultades del cuidador generadas por cada uno de los trastornos neuropsiquiátricos. Se extrae sangre y se miden los niveles de EPA, DHA y fosfolípidos.

10

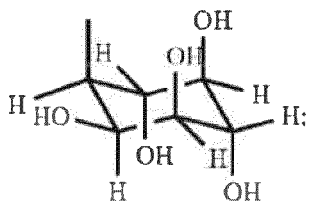
REIVINDICACIONES

1. Una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para uso en un método de tratamiento médico, que comprende compuestos de la fórmula general:



en la que:

R_1 y R_2 representan cada uno independientemente un residuo de ácido docosahexaenoico (DHA) o de ácido eicosapentaenoico (EPA);
cada X se selecciona independientemente entre $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ o



los fosfolípidos totales en la composición están en una concentración de aproximadamente el 66 % (p/p);
la composición comprende adicionalmente astaxantina;
el EPA total en el extracto está en una concentración de entre aproximadamente el 15 % y el 25 % (p/p);
el DHA total en el extracto está en una concentración de entre aproximadamente el 10 % y el 15 % (p/p) y
la composición es para ser administrada a un sujeto, en el que el sujeto es un mamífero, preferentemente un ser humano.

2. La composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para el uso de la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente un portador farmacéuticamente aceptable, en el que el portador farmacéuticamente aceptable es, opcionalmente, un material de encapsulación.

3. La composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para el uso de la reivindicación 1, en la que la composición comprende adicionalmente triglicéridos en una concentración por debajo de aproximadamente el 5 %.

4. La composición terapéutica concentrada en fosfolípidos para el uso de la reivindicación 1, en la que:

dichos EPA y DHA están presentes en una relación de la cantidad total de DHA respecto a EPA de aproximadamente 1:0,7 o
dichos EPA y DHA están presentes en una relación de la cantidad total de EPA respecto a DHA de aproximadamente 1:0,5.

5. Un extracto que comprende una cantidad eficaz de una composición terapéutica concentrada en fosfolípidos según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para uso en un método de tratamiento médico, opcionalmente, en el que el extracto es obtenible a partir de aceite de camarón antártico como materia prima en bruto mediante la extracción de CO_2 supercrítico a contracorriente para producir la composición de fosfolípidos terapéutica concentrada.

6. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o un extracto según la reivindicación 5 para uso en la reducción de los niveles de triglicéridos en plasma en circulación.

7. La composición o extracto para uso de la reivindicación 6, adicionalmente, para en uno o más usos en la reducción de las concentraciones en plasma de colesterol de LDL y en el aumento de las concentraciones en plasma de colesterol de HDL.

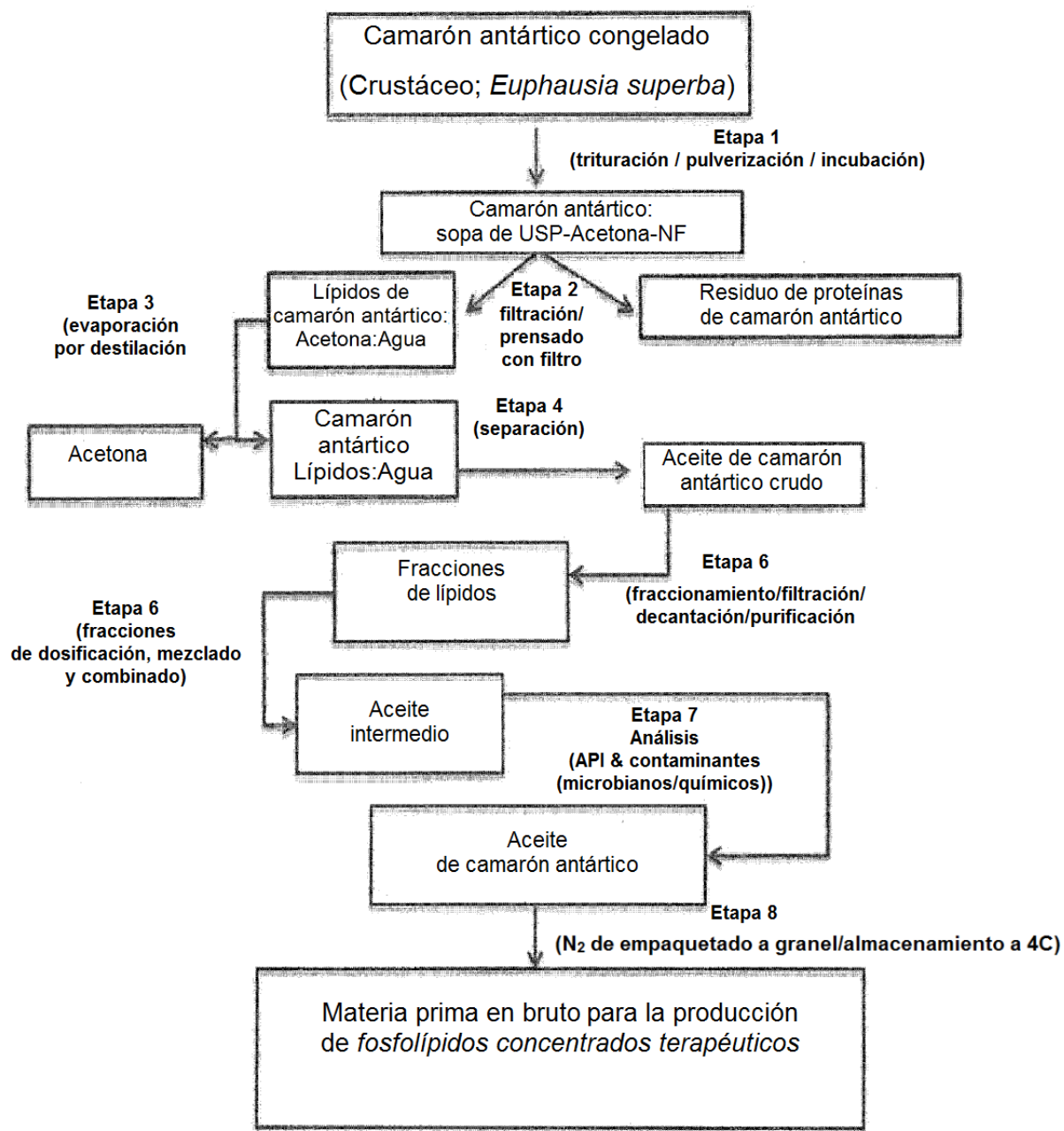


FIGURA 1A

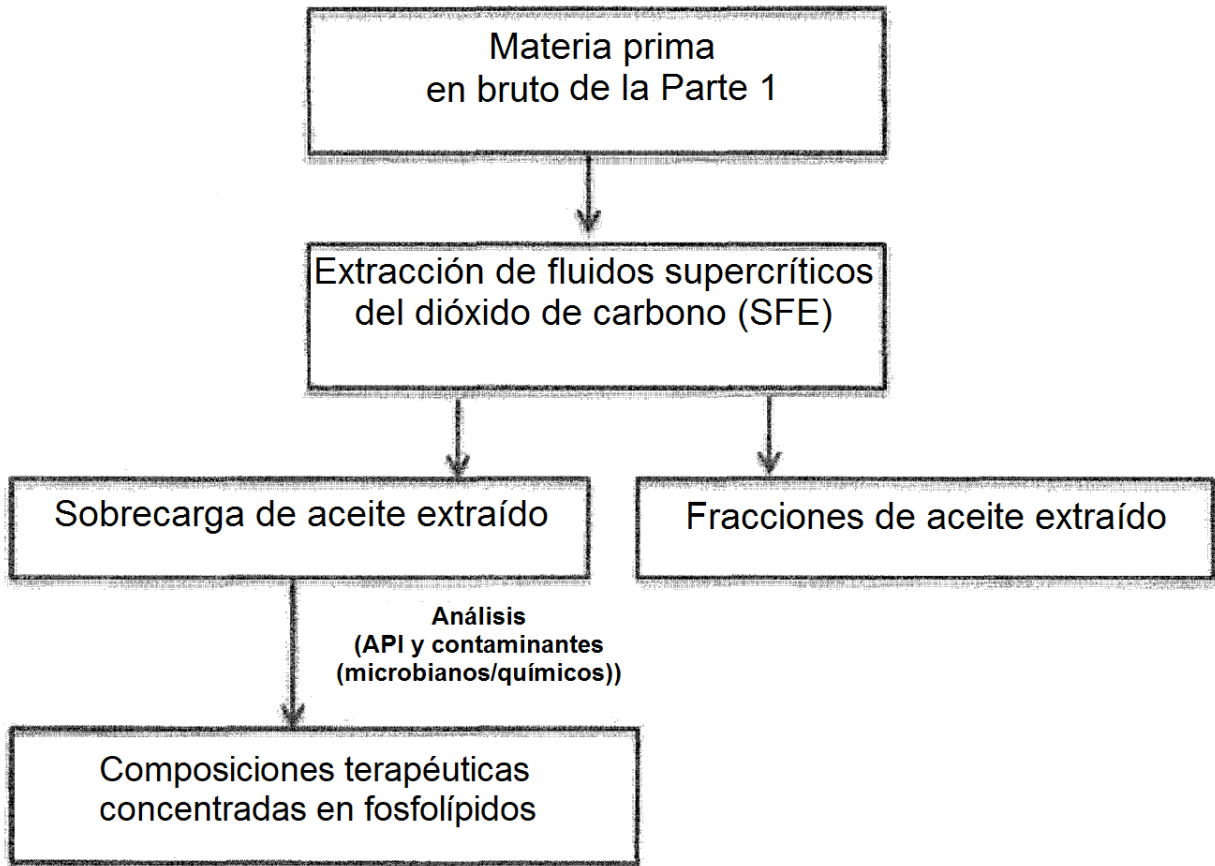


FIGURA 1B

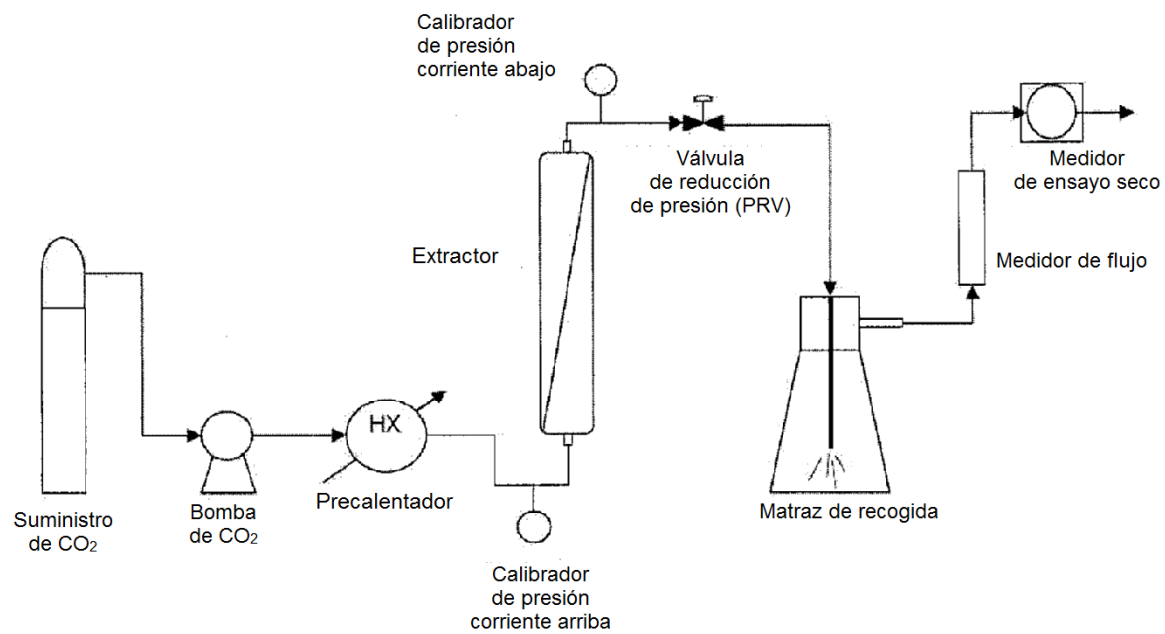


FIGURA 1C

Concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones C57BL/6

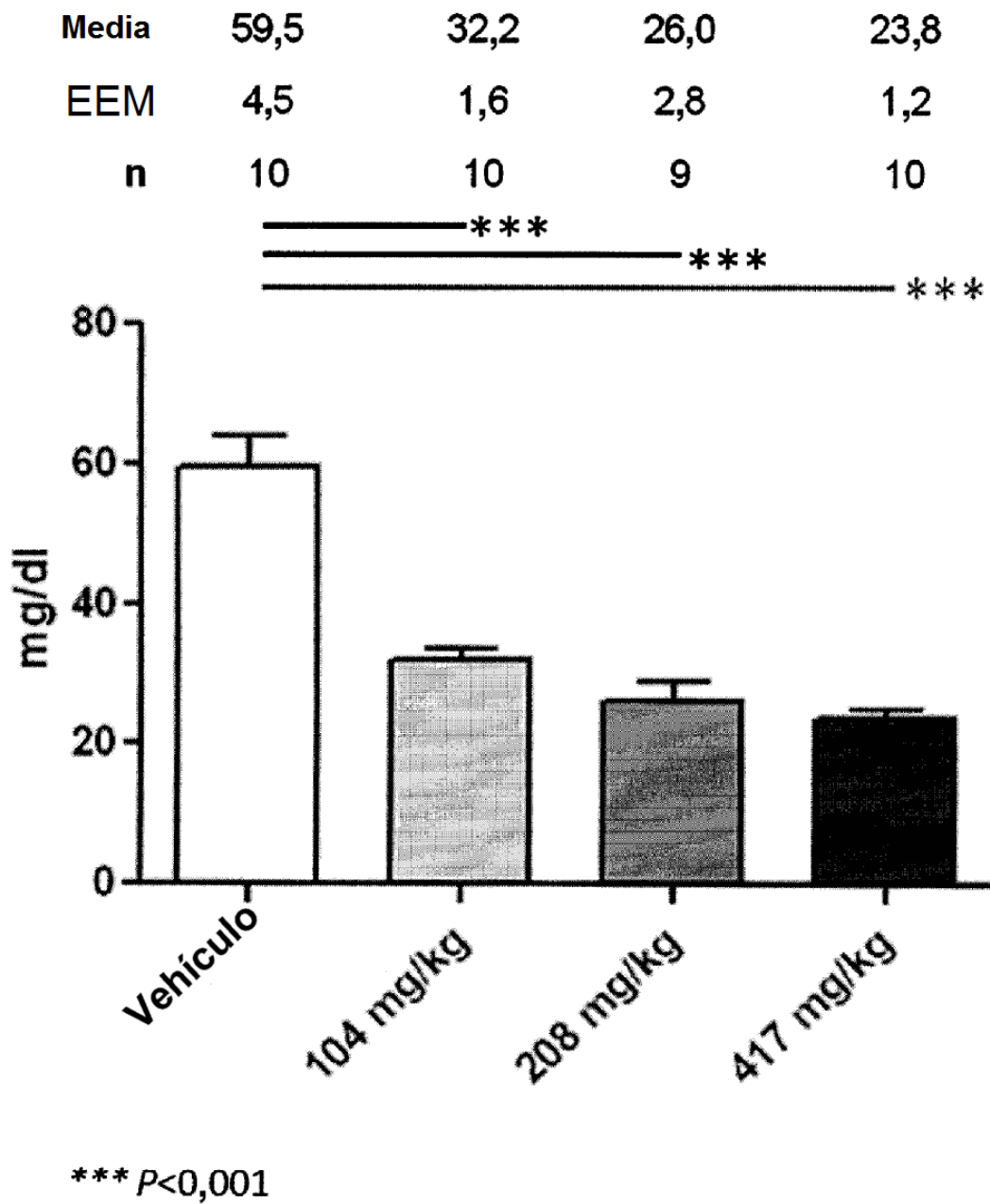


FIGURA 2

Concentración de colesterol de HDL en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	53,4	59,4	63,4	62,3
EEM	3,2	1,9	3,5	2,4
n	10	10	10	10

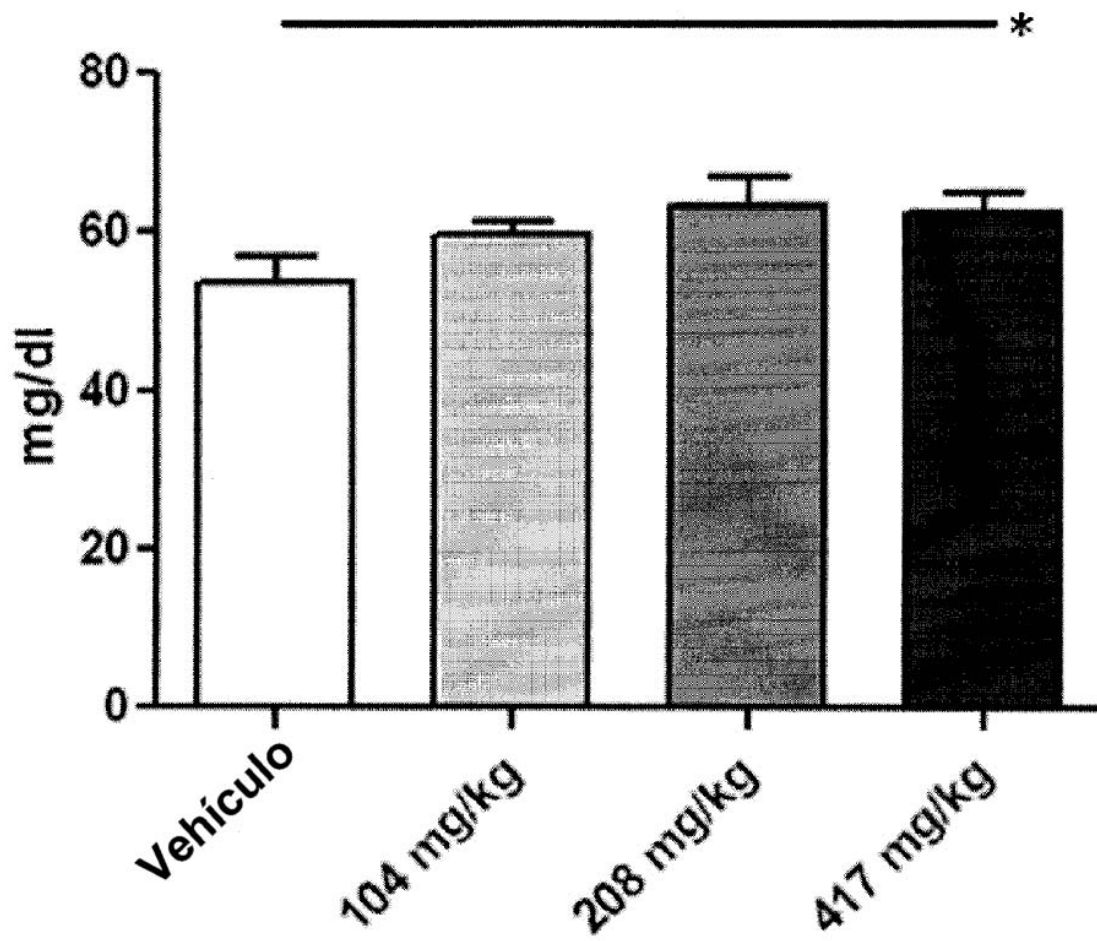
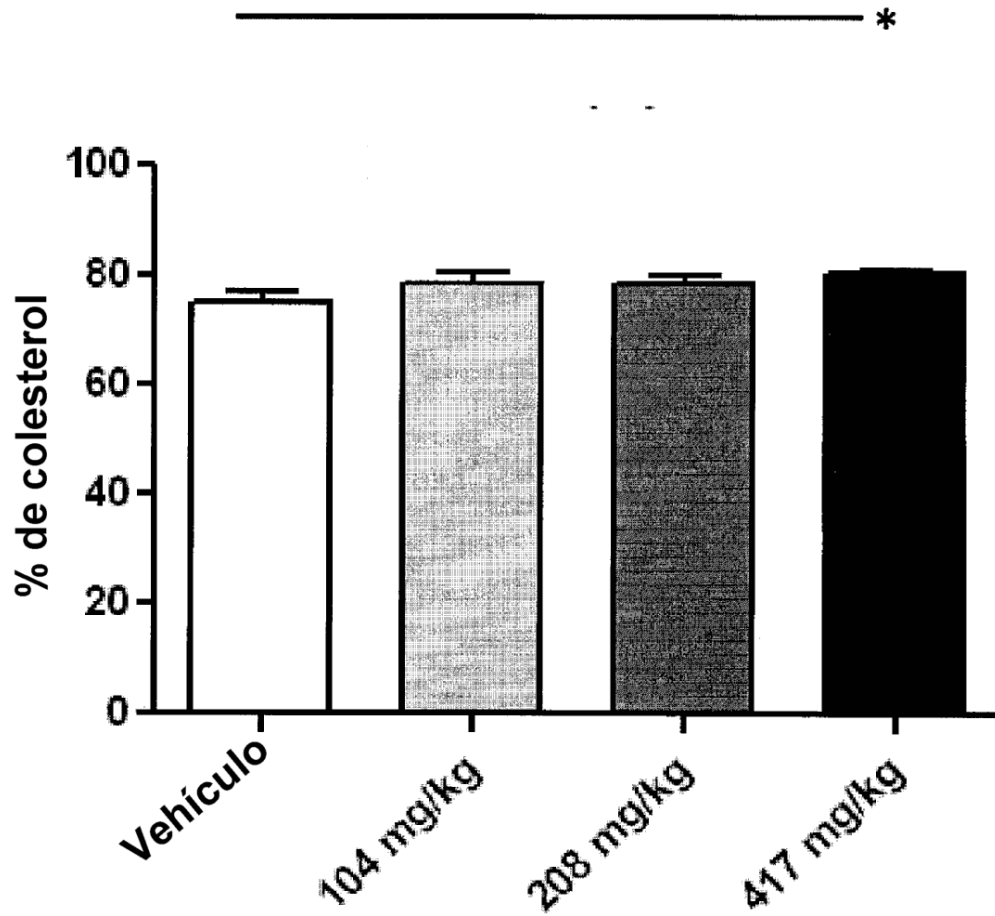


FIGURA 3

Porcentaje de plasma en circulación de colesterol de HDL en ratones C57BL/6

Media	74,9	78,4	78,4	80,6
EEM	2,1	2,2	1,7	0,6
n	10	10	10	9

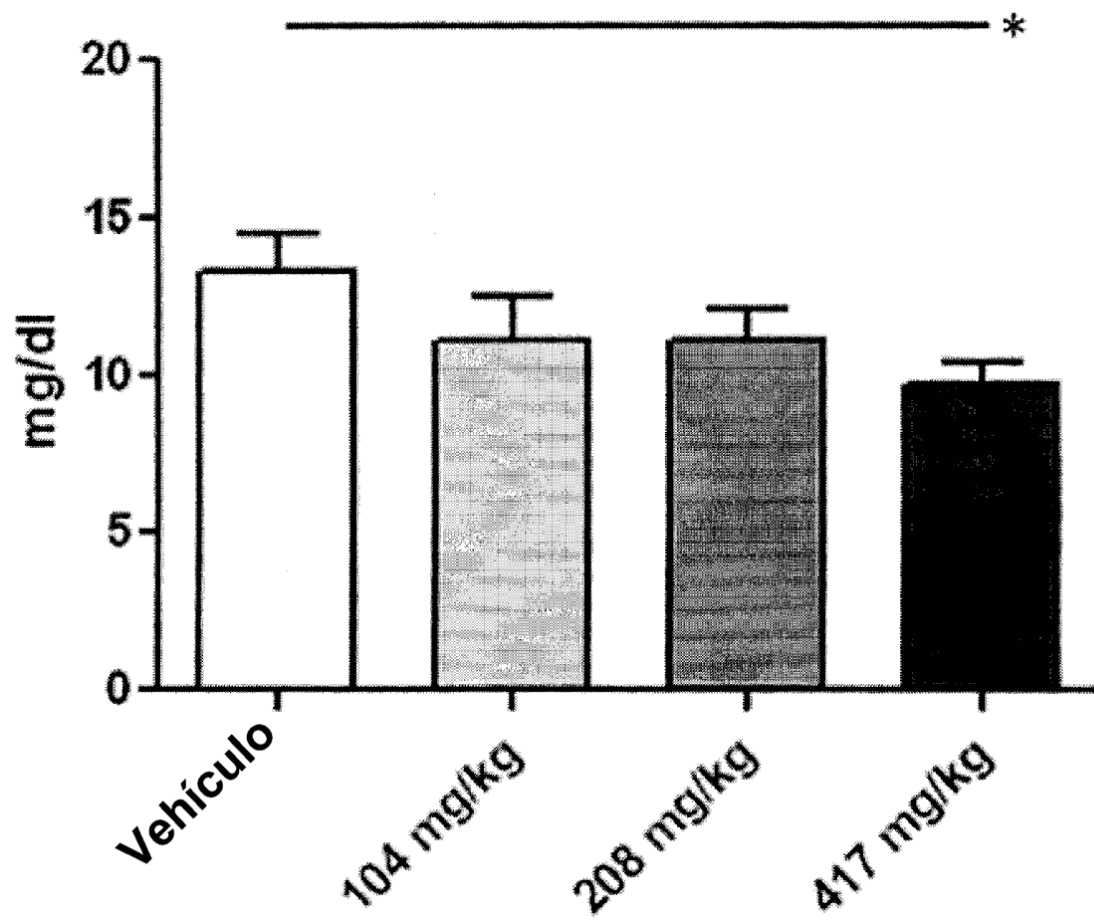


* $P < 0,05$

FIGURA 4

Concentración de colesterol de LDL en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	13,3	11,1	11,2	9,6
EEM	1,2	1,4	1,0	0,7
n	10	10	10	9

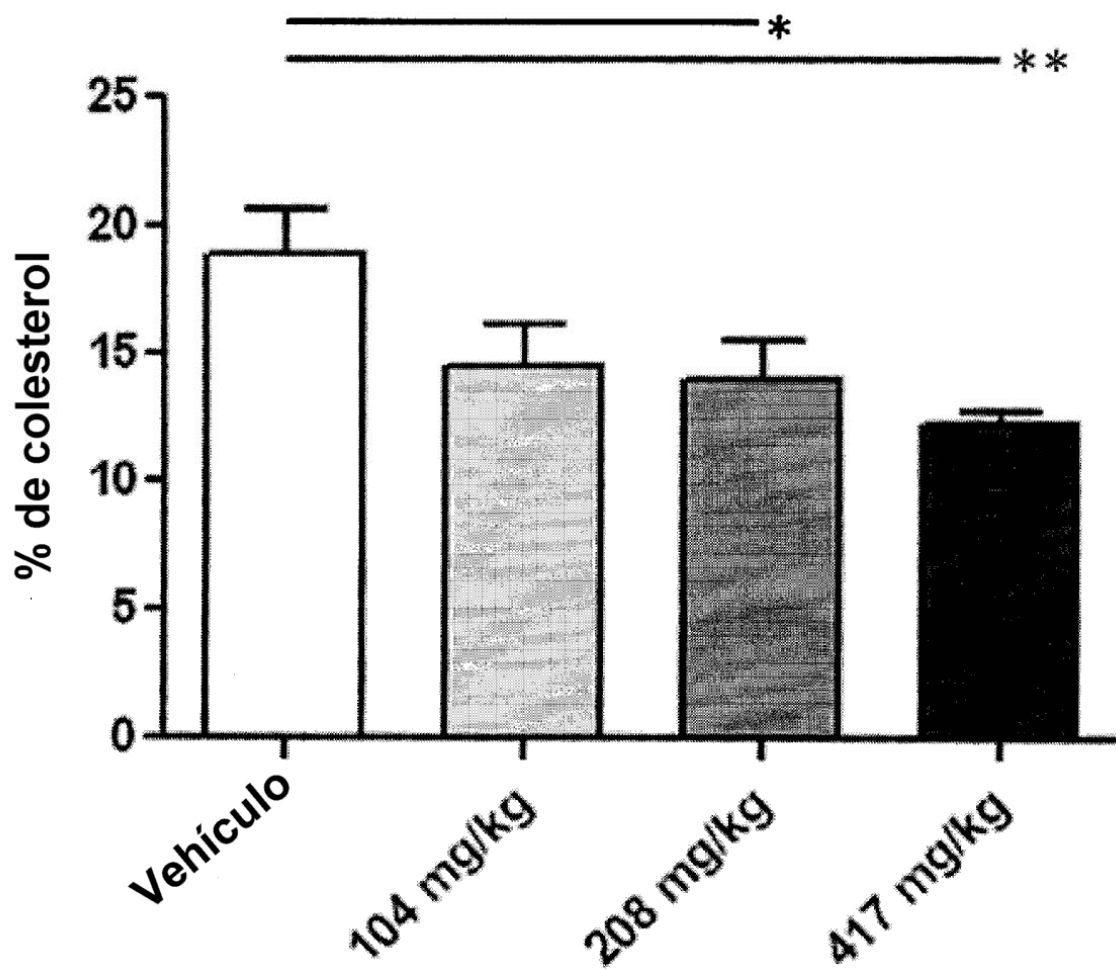


* $P < 0,05$

FIGURA 5

Porcentaje de plasma en circulación de colesterol de LDL en ratones C57BL/6

Media	18,9	14,5	14,1	12,2
EEM	1,8	1,7	1,4	0,5
n	10	10	10	9

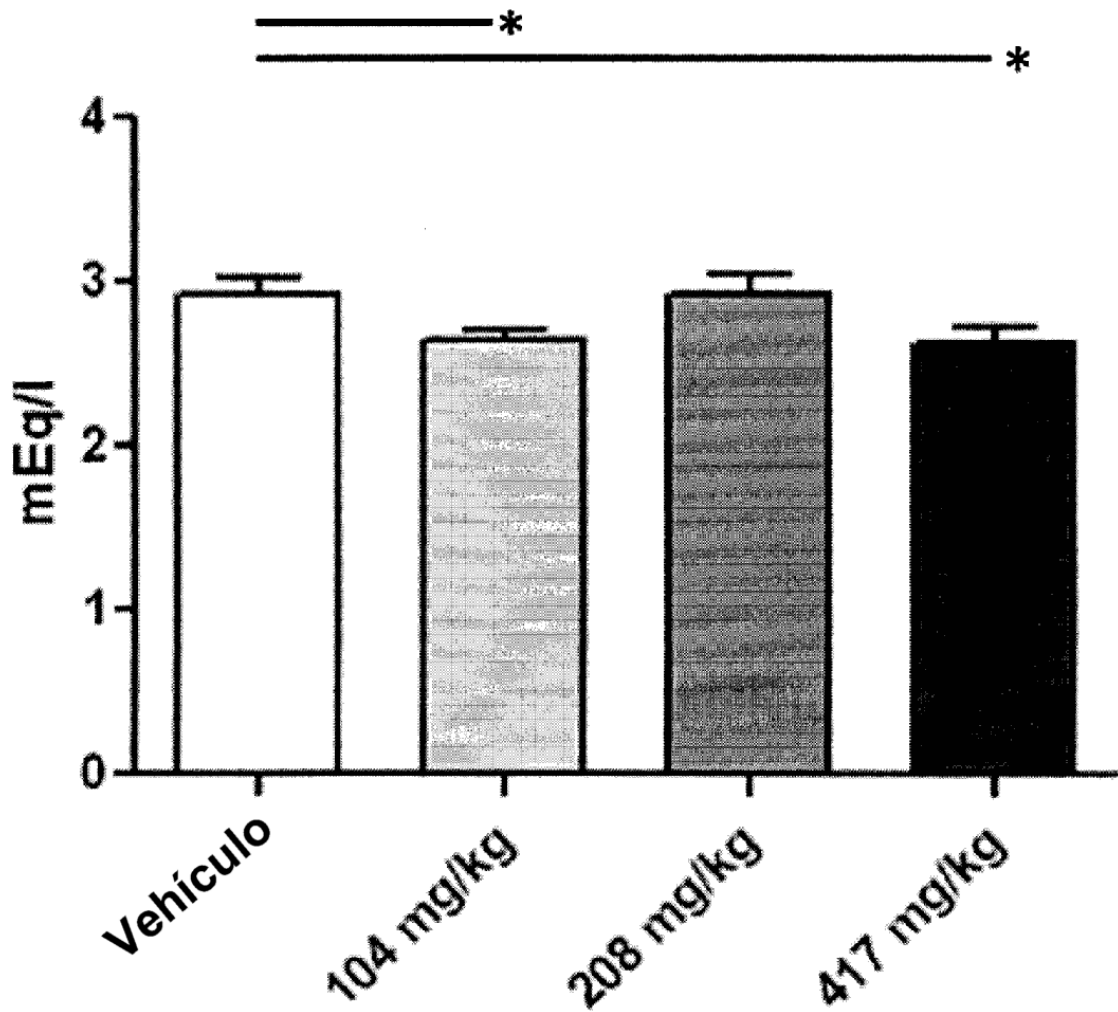


* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

FIGURA 6

Concentración de NEFA en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	2,92	2,65	2,93	2,63
EEM	0,10	0,06	0,12	0,09
n	10	9	9	9

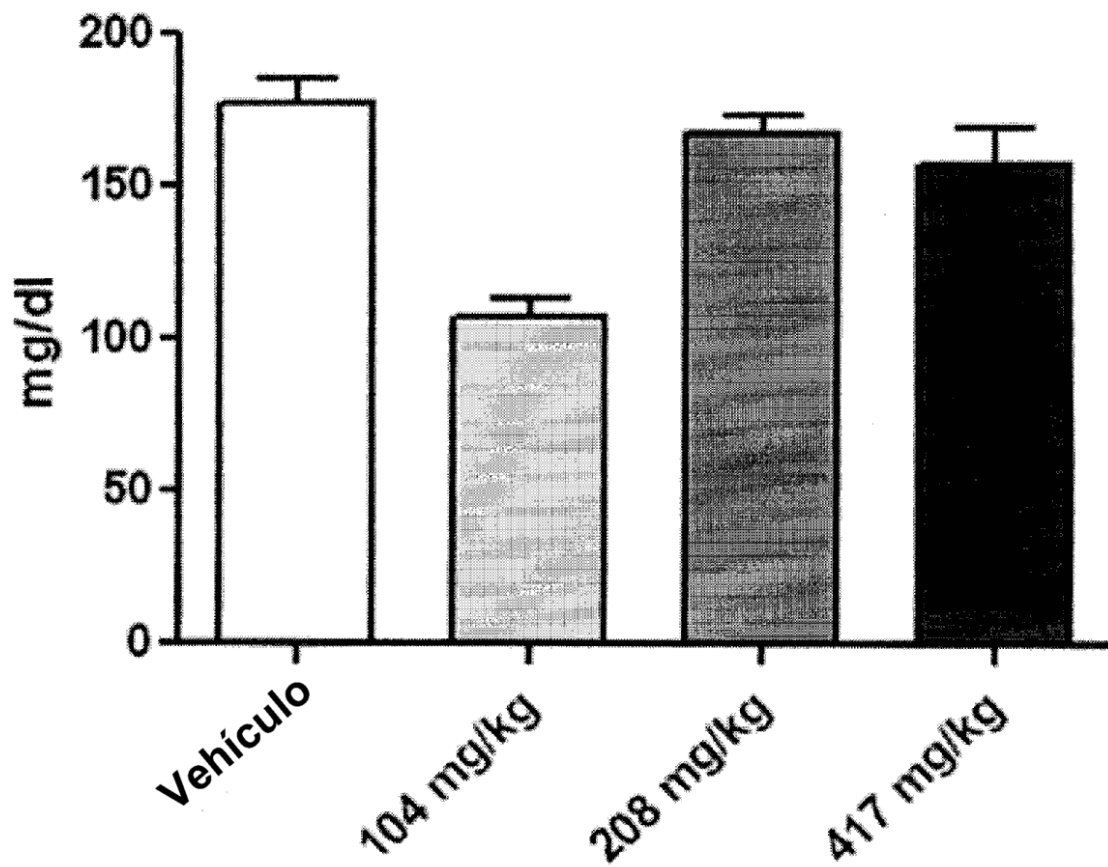


* $P < 0,05$

FIGURA 7

Concentración de glucosa en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	177,0	107,0	167,6	157,3
EEM	8,4	6,3	5,9	12,0
n	10	10	9	10



*** $P < 0,001$

FIGURA 8

Concentración de fosfolípidos en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	141,9	140,5	147,4	138,6
EEM	7,2	4,1	5,5	5,4
n	10	10	9	10

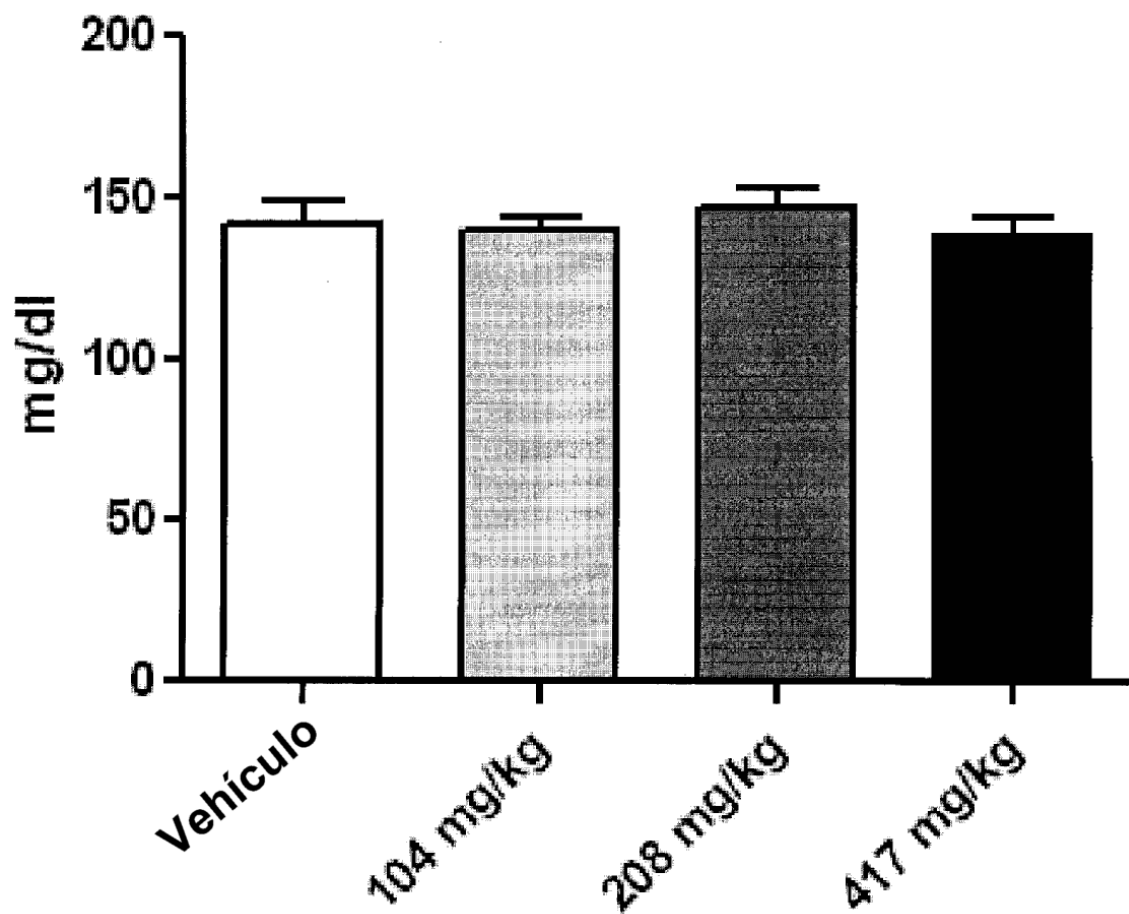


FIGURA 9

Concentración de ALT en plasma en circulación de ratones C57BL/6

Media	36,1	31,0	26,9	27,8
EEM	3,9	3,5	1,8	1,2
n	10	10	10	10

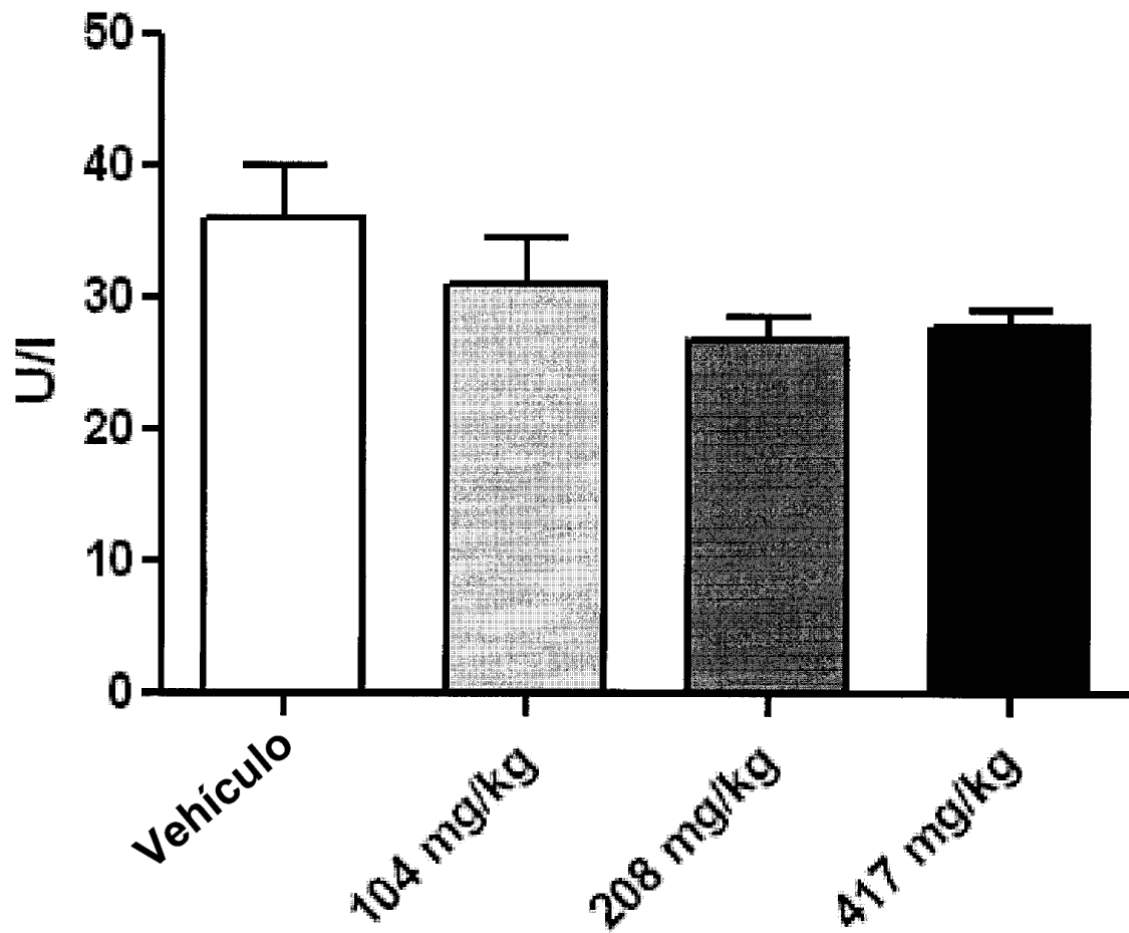
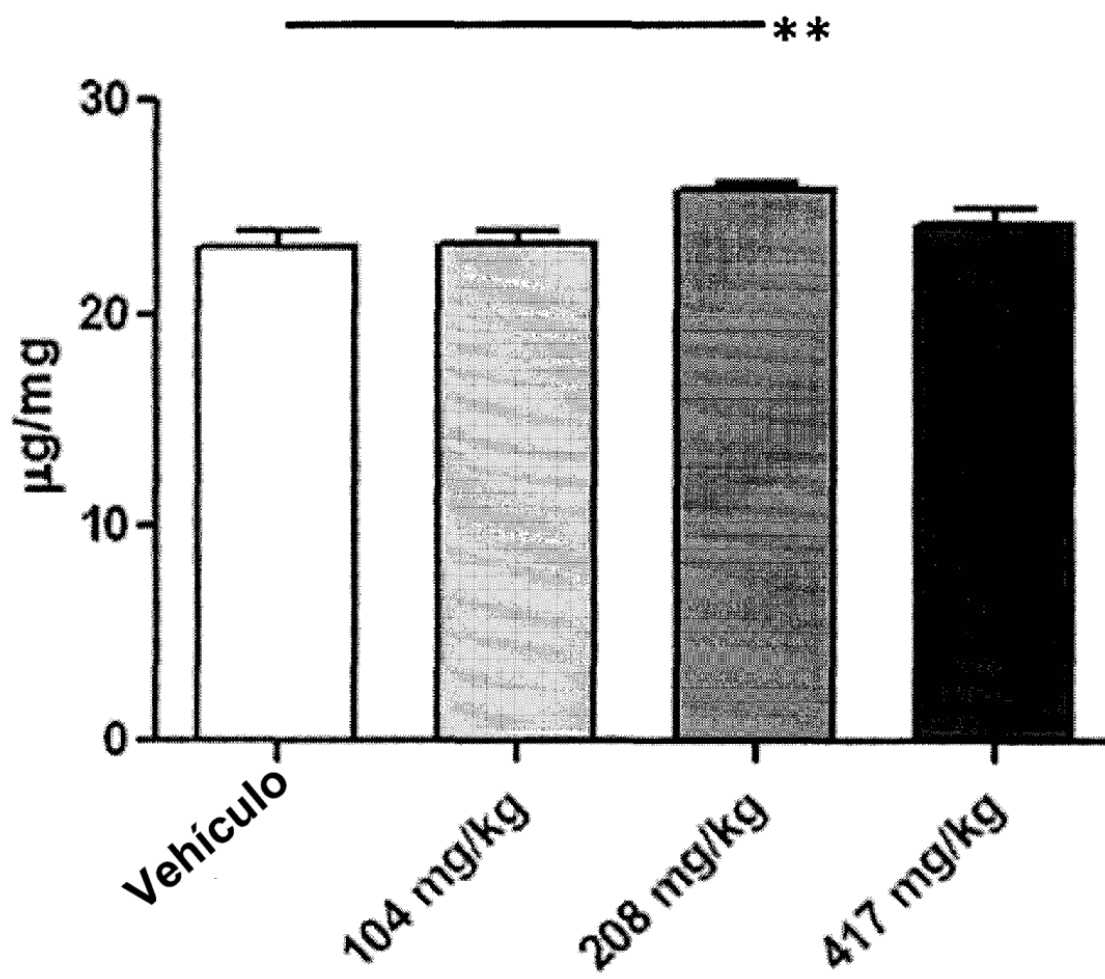


FIGURA 10

Concentración de colesterol total en hígado de ratones C57BL/6

Media	23,1	23,3	25,8	24,1
EEM	0,8	0,6	0,3	0,8
n	10	10	9	10

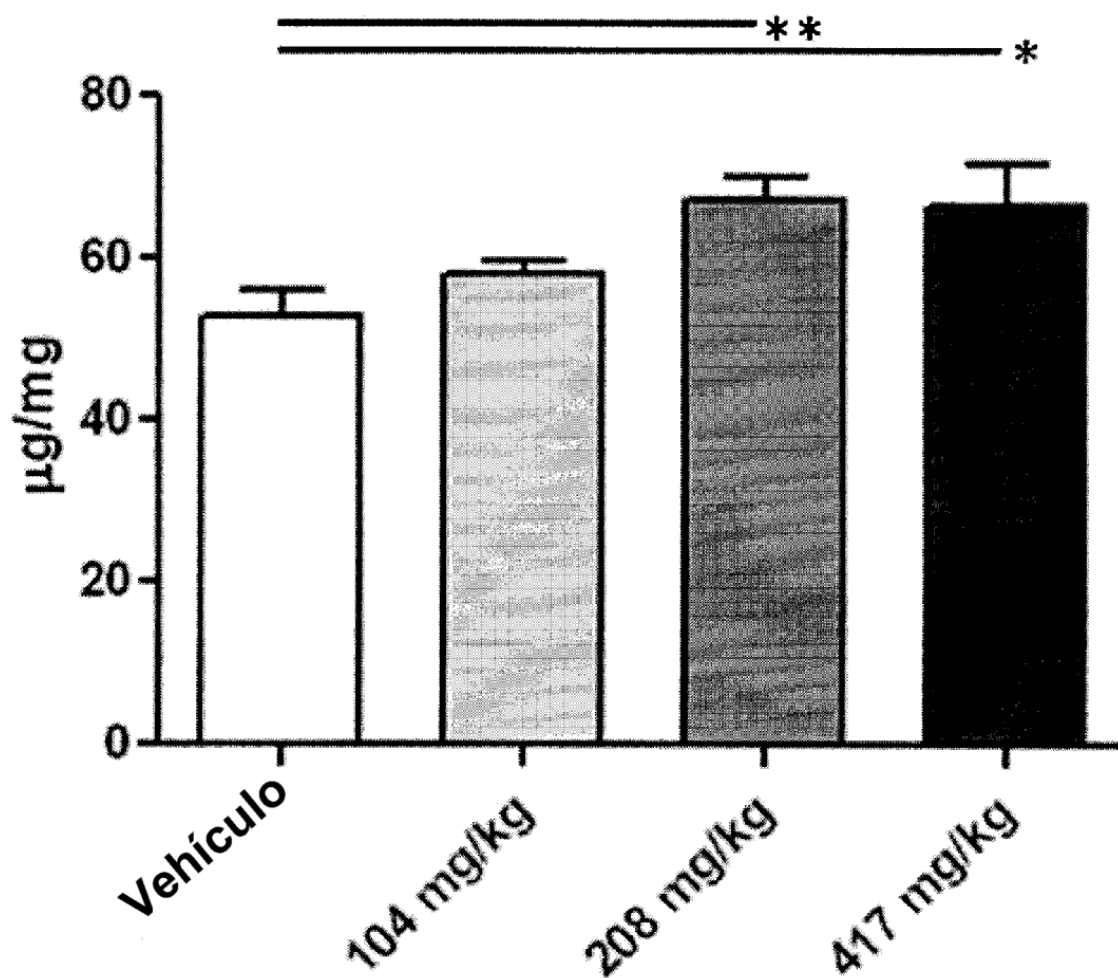


** $P < 0,01$

FIGURA 11

Concentración de triglicéridos en hígado de ratones C57BL/6

Media	53,0	58,0	67,4	66,3
EEM	3,1	1,7	2,6	5,4
n	10	10	9	10

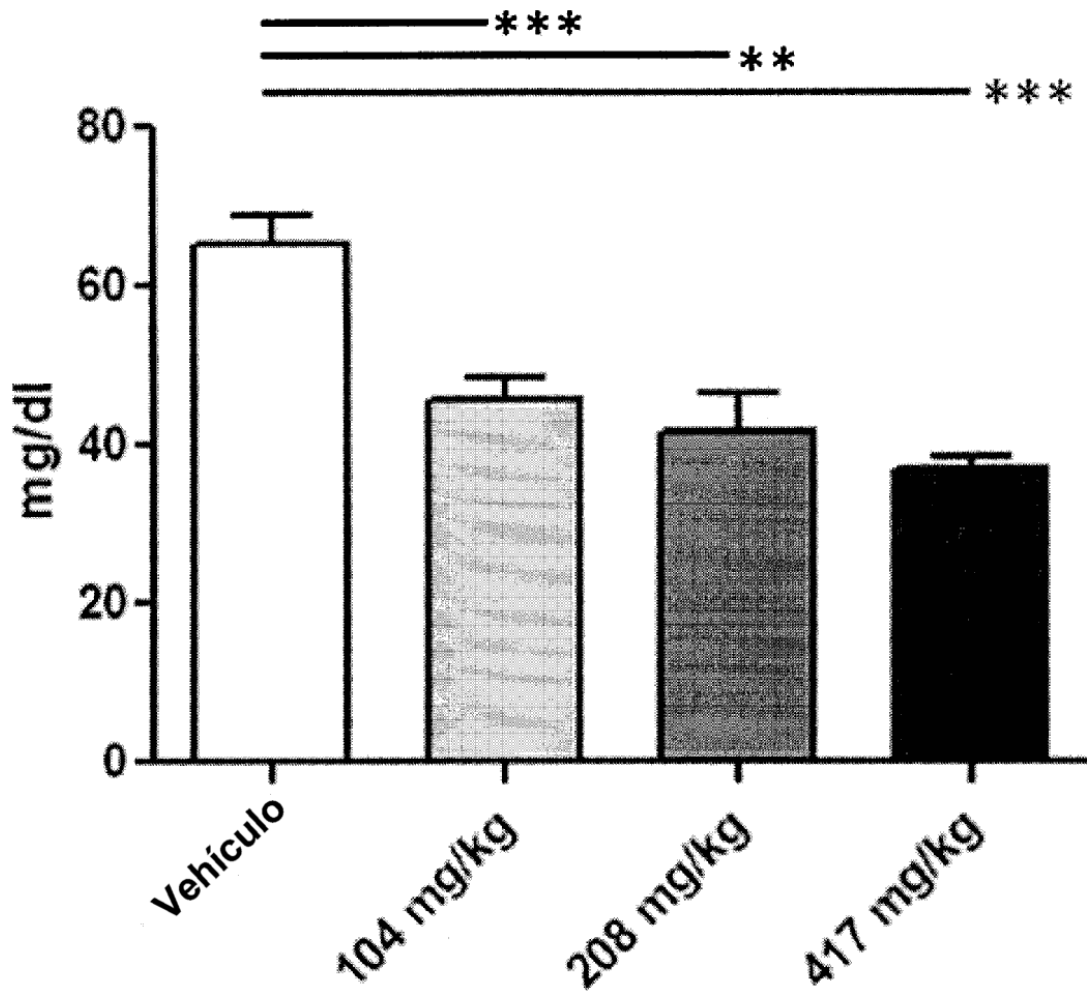


* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

FIGURA 12

Concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones LDLr KO

Media	65,1	45,7	41,7	36,7
EEM	3,8	2,8	4,9	1,6
n	9	10	10	10

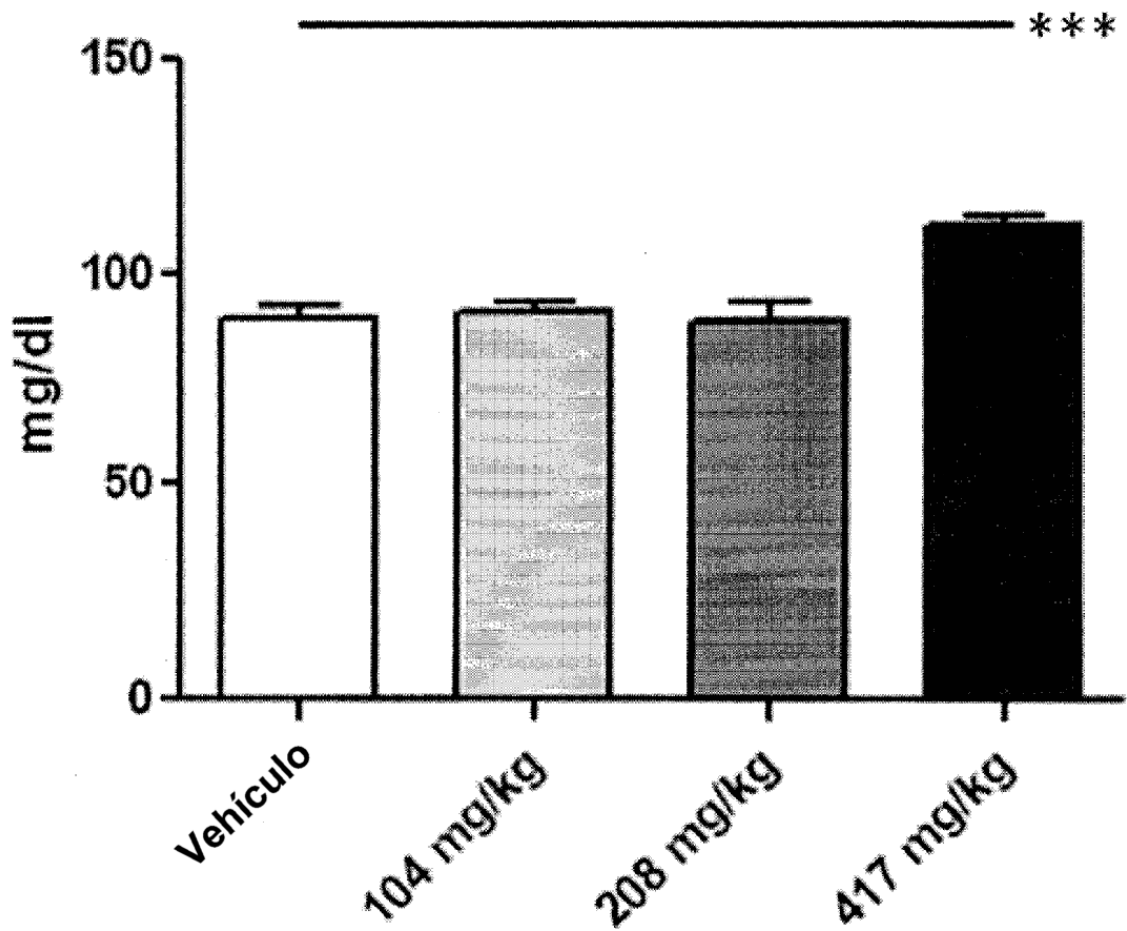


** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$

FIGURA 13

Concentración de colesterol de HDL en plasma en circulación de ratones LDLr KO

Media	88,8	90,9	88,4	111,2
EEM	3,6	2,5	4,6	2,5
n	9	9	9	10

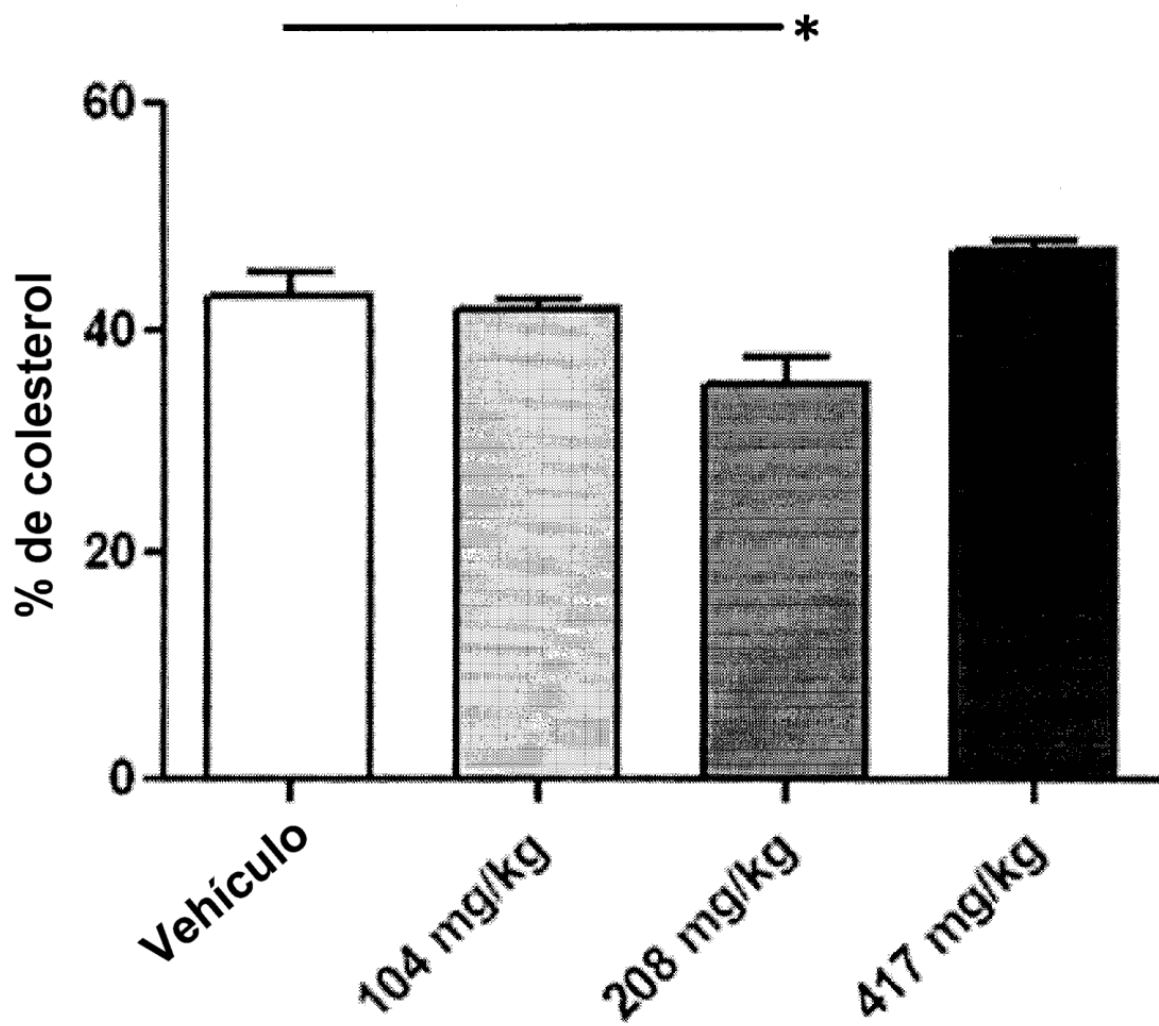


*** $P < 0,001$

FIGURA 14

Porcentaje de plasma en circulación de colesterol de HDL en ratones LDLr KO

Media	43,0	41,9	35,1	46,8
EEM	2,1	0,8	2,3	1,1
n	10	9	10	10



* $P < 0,05$

FIGURA 15

Concentración de colesterol total en hígado de ratones LDLr KO

Media	23,6	24,5	25,8	24,9
EEM	0,6	0,3	0,9	0,6
n	10	9	10	10

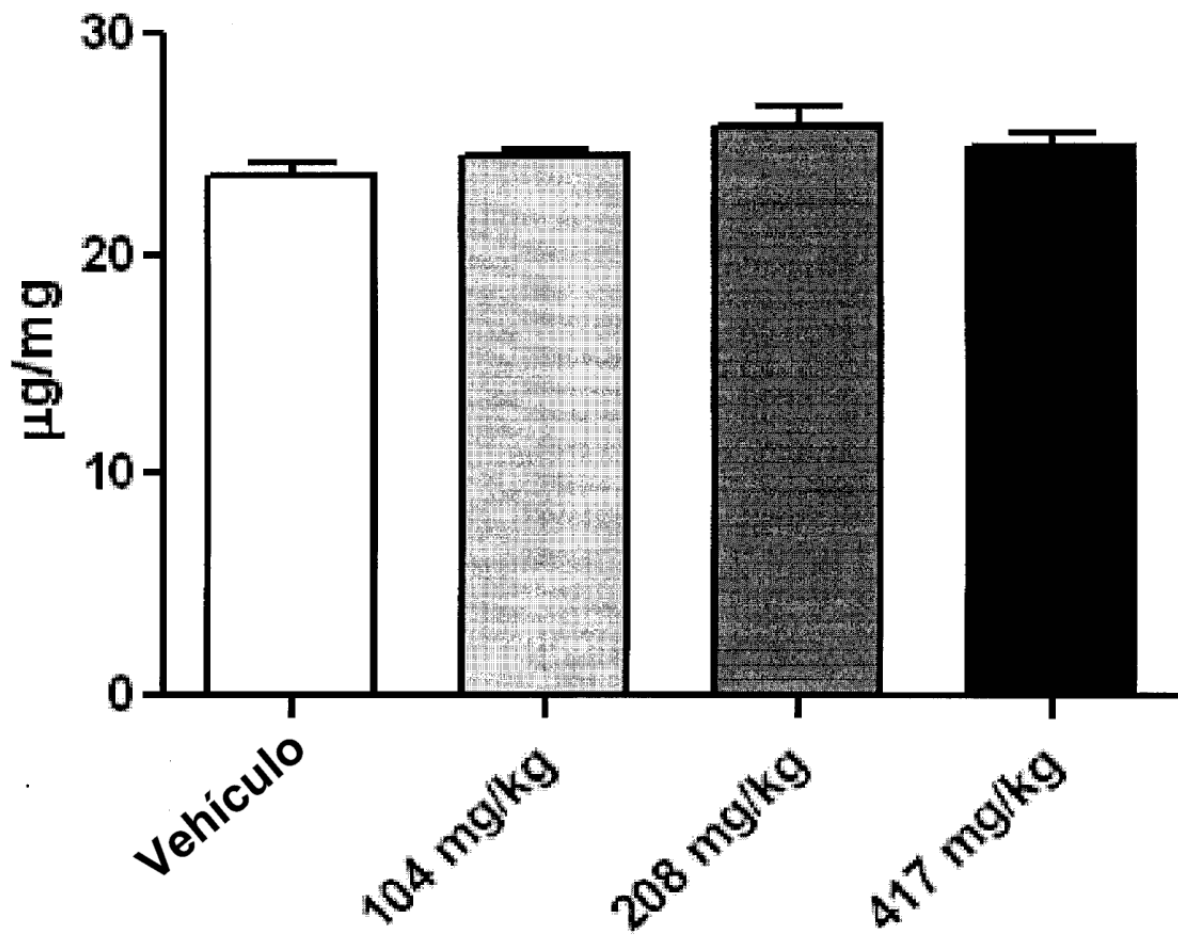
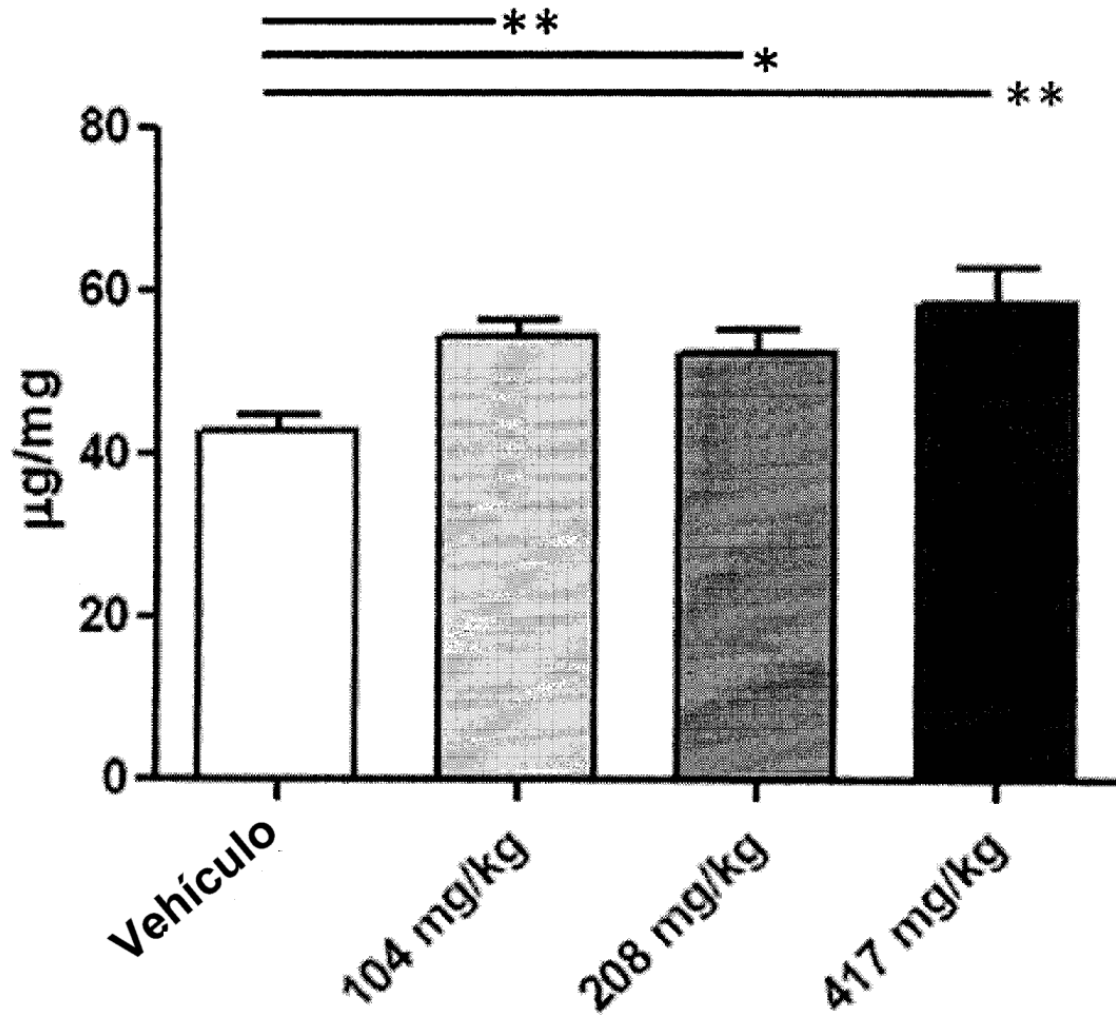


FIGURA 16

Concentración de triglicéridos en hígado de ratones LDLr KO

Media	42,9	54,3	52,4	58,4
EEM	2,1	2,1	3,0	4,5
n	10	9	9	10



* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

FIGURA 17

Concentración de triglicéridos en plasma en circulación de ratones ApoA-1 CETP

Media	53,0	19,3	43,2	43,0
EEM	12,9	2,8	11,7	8,2
n	9	9	9	8
	—————*			

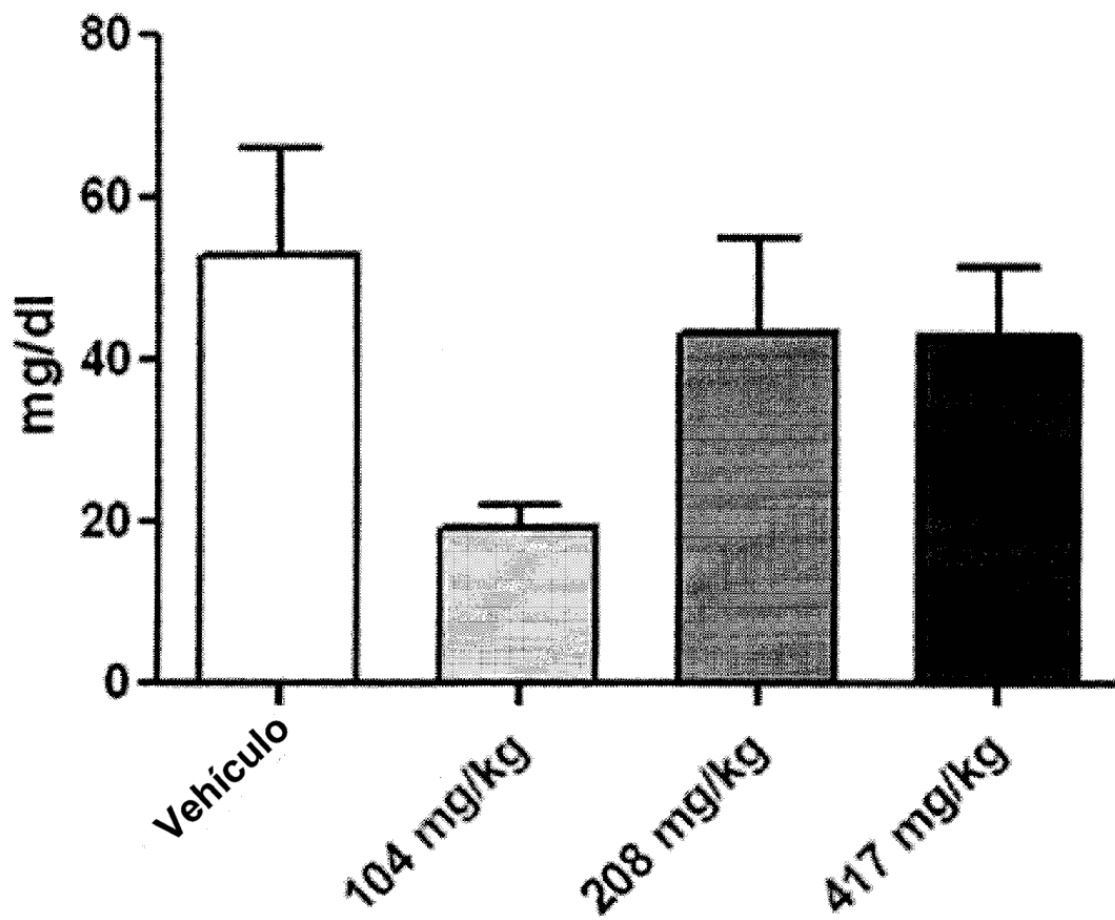
* $P < 0,05$

FIGURA 18

**Concentración de colesterol total en plasma en circulación de ratas macho adultas
SD, ZDF, SHR y JCR:LA**

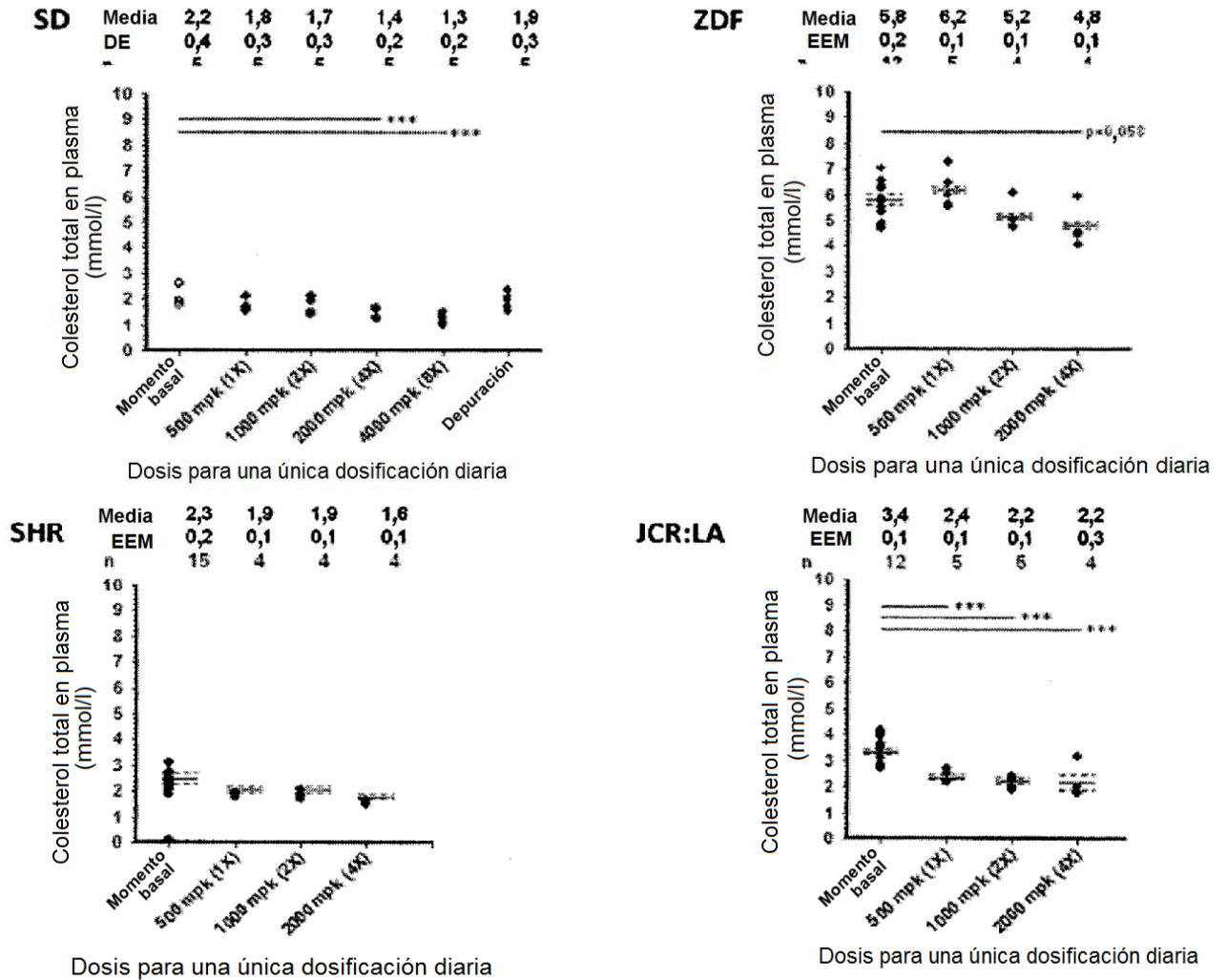
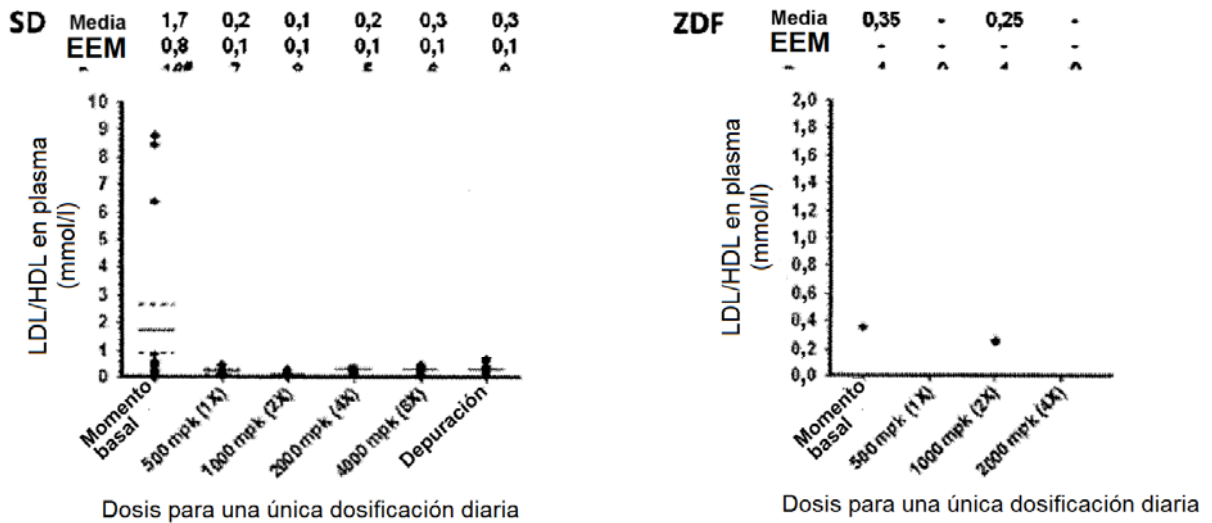


FIGURA 19

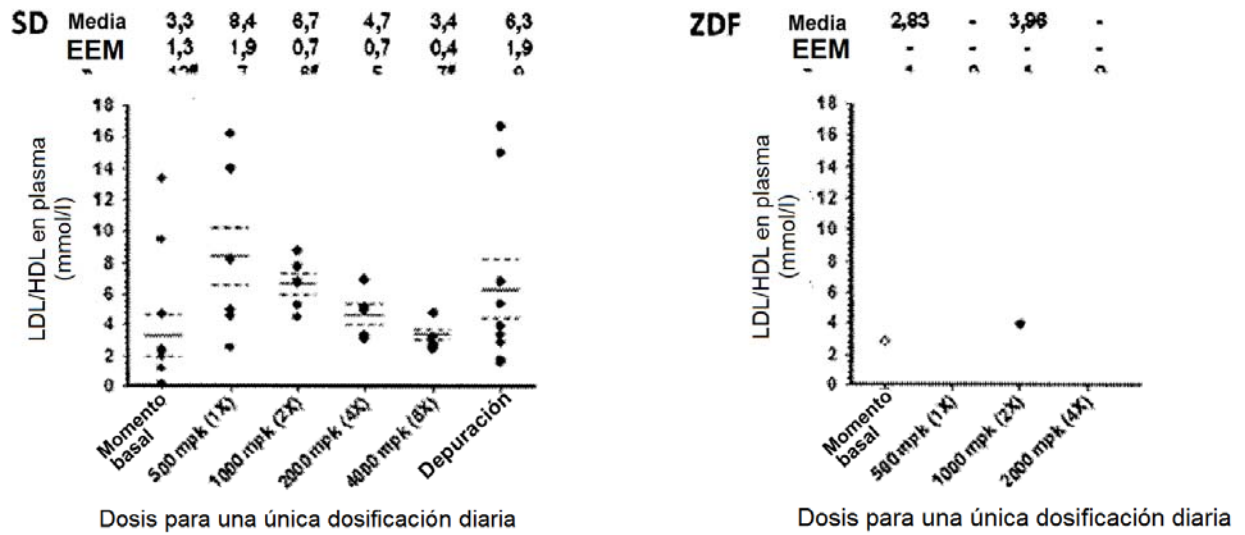
**Concentración de LDL/HDL en plasma en circulación de ratas macho adultas
SD, ZDF, SHR y JCR:LA**



#, 1 valor retirado

FIGURA 20

**Concentración de HDL/LDL en plasma en circulación de ratas macho adultas
SD, ZDF, SHR y JCR:LA**



#, 1 valor retirado

FIGURA 21

**Concentración de colesterol/HDL en plasma en circulación de ratas macho adultas
SD, ZDF, SHR y JCR:LA**

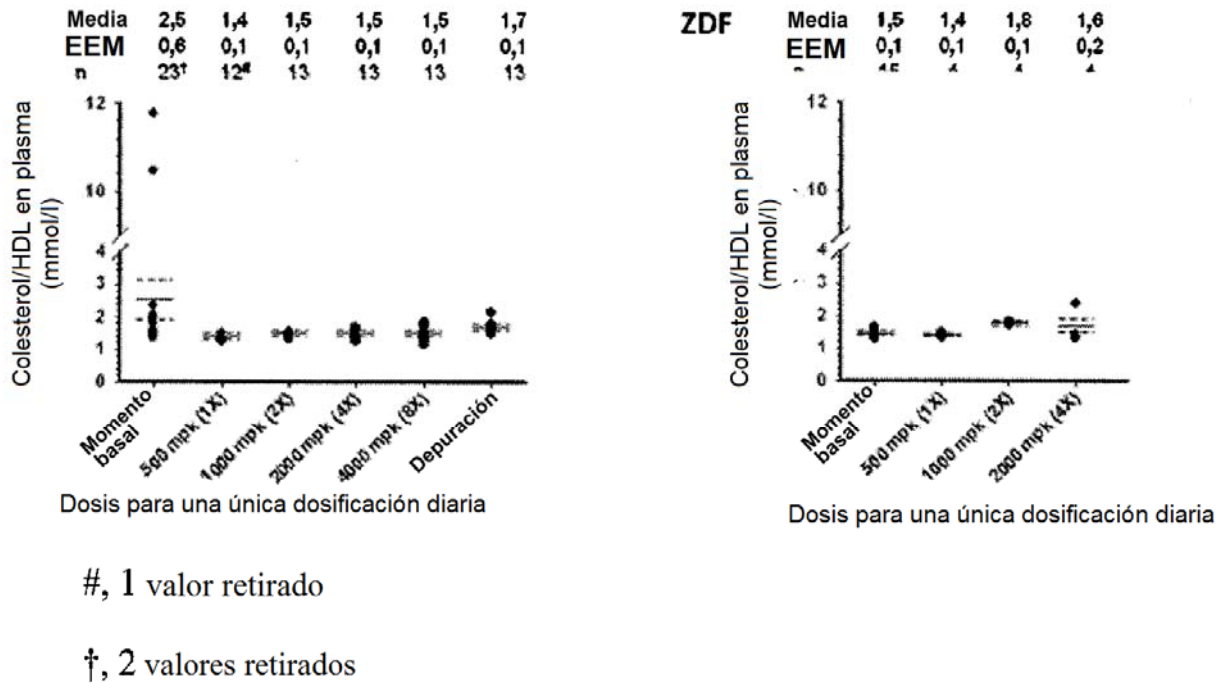


FIGURA 22

**Tiempo de protrombina de las ratas macho adultas
SD, ZDF, SHR y JCR:LA**

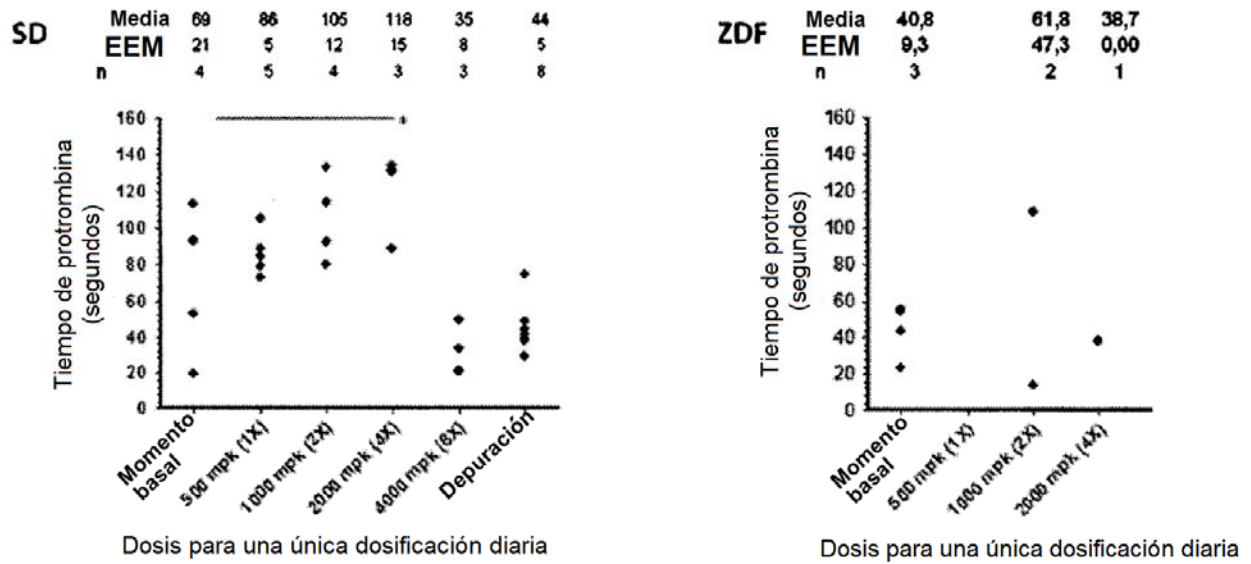
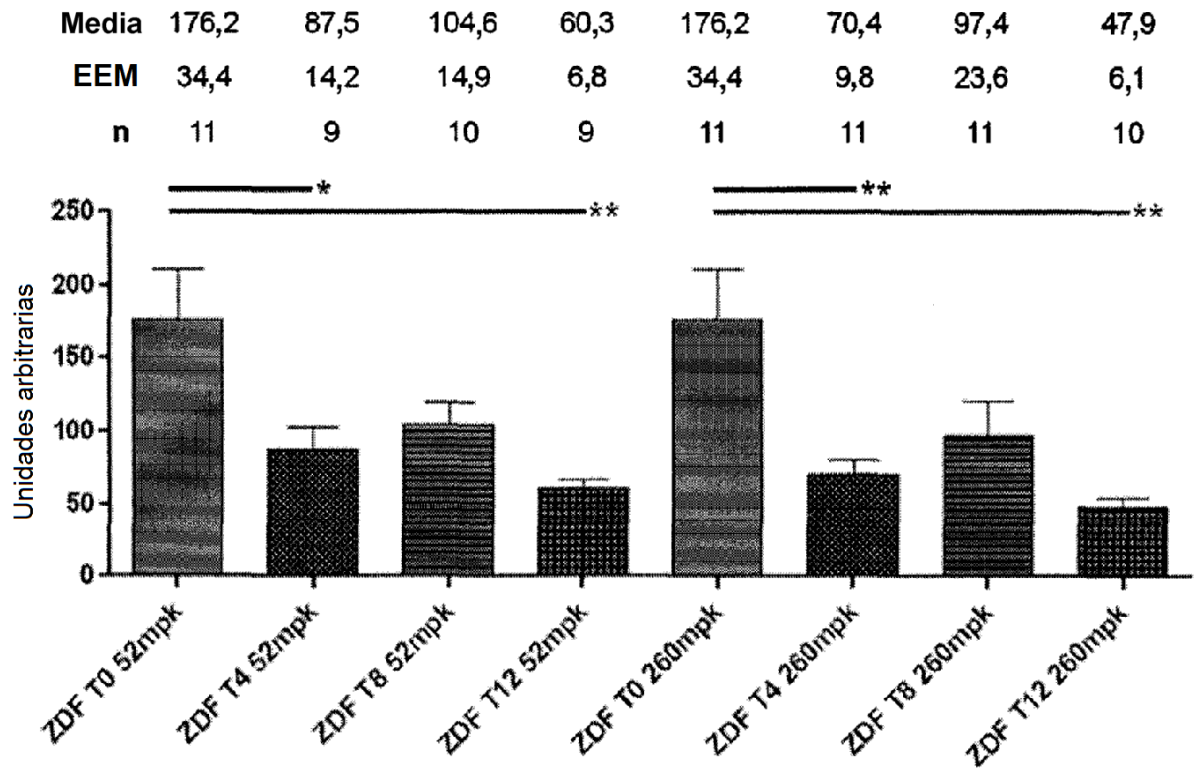


FIGURA 23

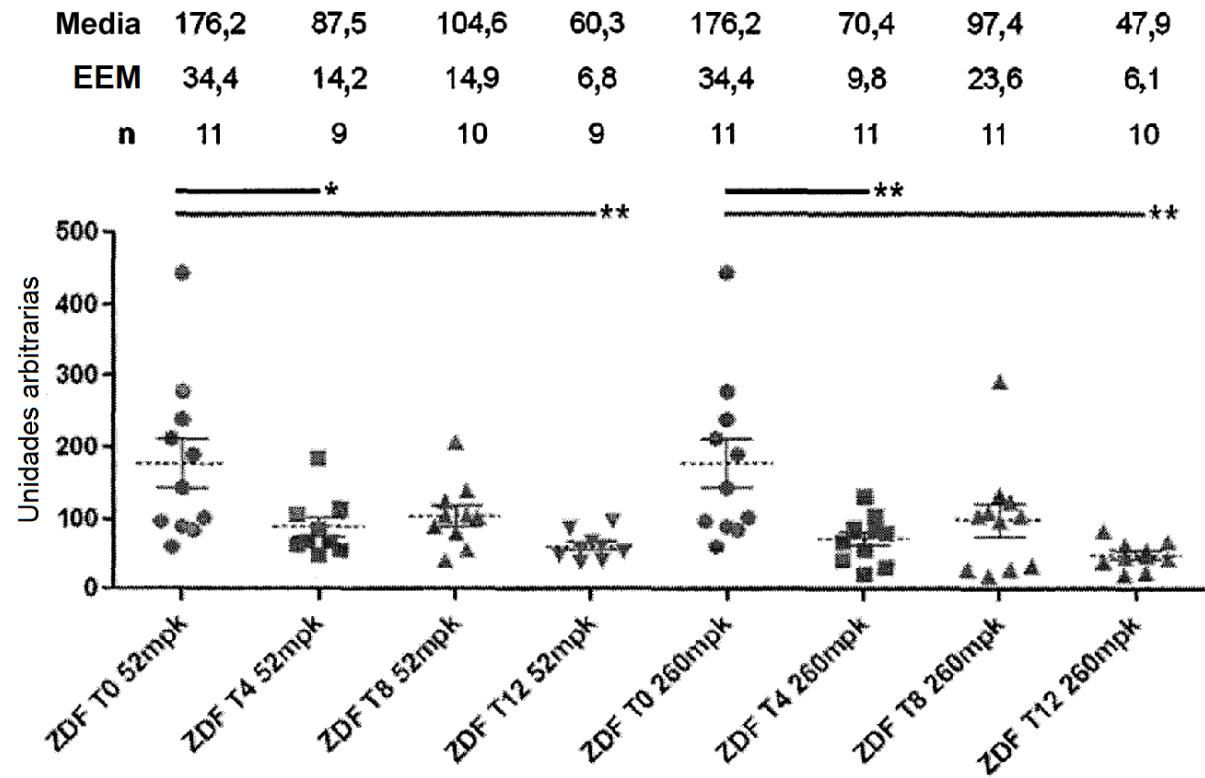
**Área de datos bajo la curva de OGTT en ratas macho ZDF
tratadas con la composición 3 durante 90 días**



* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$

FIGURA 24

Área de datos bajo la curva de OGTT en ratas macho ZDF
tratadas con la composición 3 durante 90 días



* $P<0,05$; ** $P<0,01$

FIGURA 25

**Área de datos bajo la curva de OGTT en ratas macho SD
tratadas con la composición 3 durante 90 días**

Media	63,1	52,5	51,1	50,7	63,1	86,5	65,9	66,6
EEM	8,0	7,8	6,0	5,9	8,0	21,8	7,5	7,7
n	12	6	6	6	12	6	6	6

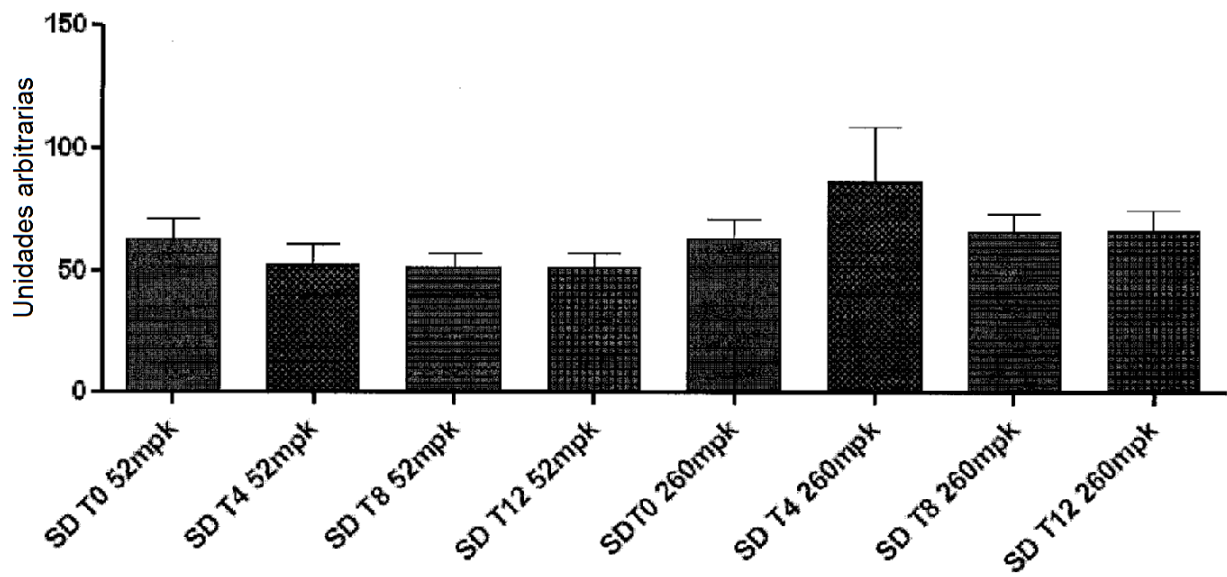


FIGURA 26

**Área de datos bajo la curva de OGTT en ratas macho SD
tratadas con la composición 3 durante 90 días**

Media	63,1	52,5	51,1	50,7	63,1	86,5	65,9	66,6
EEM	8,0	7,8	6,0	5,9	8,0	21,8	7,5	7,7
n	12	6	6	6	12	6	6	6

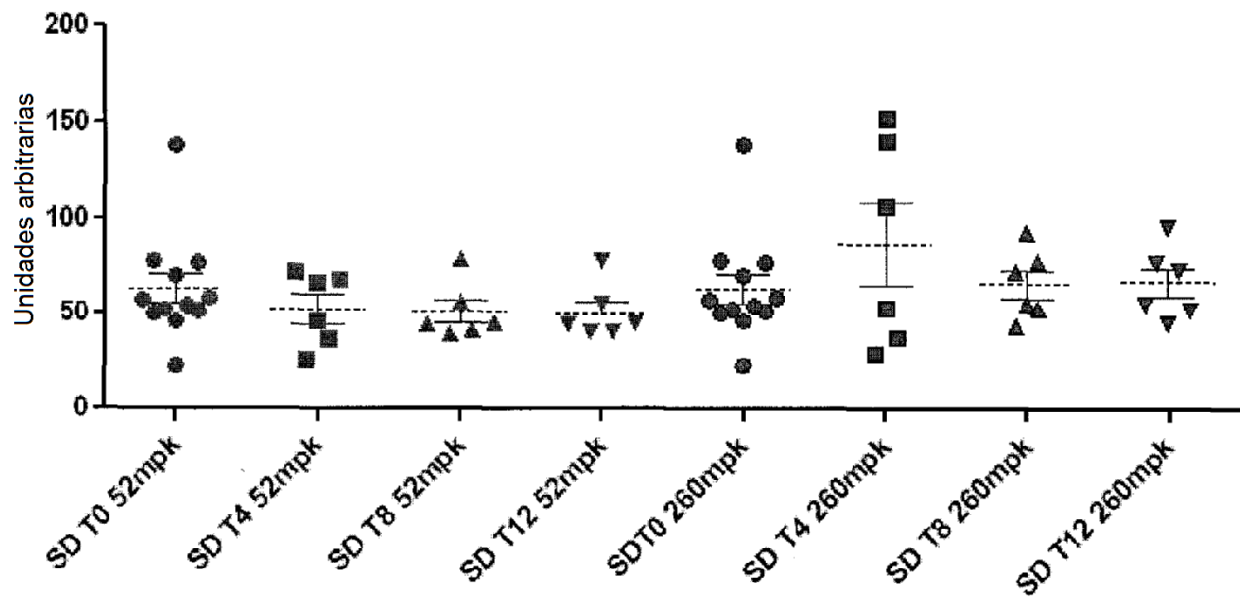


FIGURA 27

Efectos de la composición 3 en bioindicadores de lípidos en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas

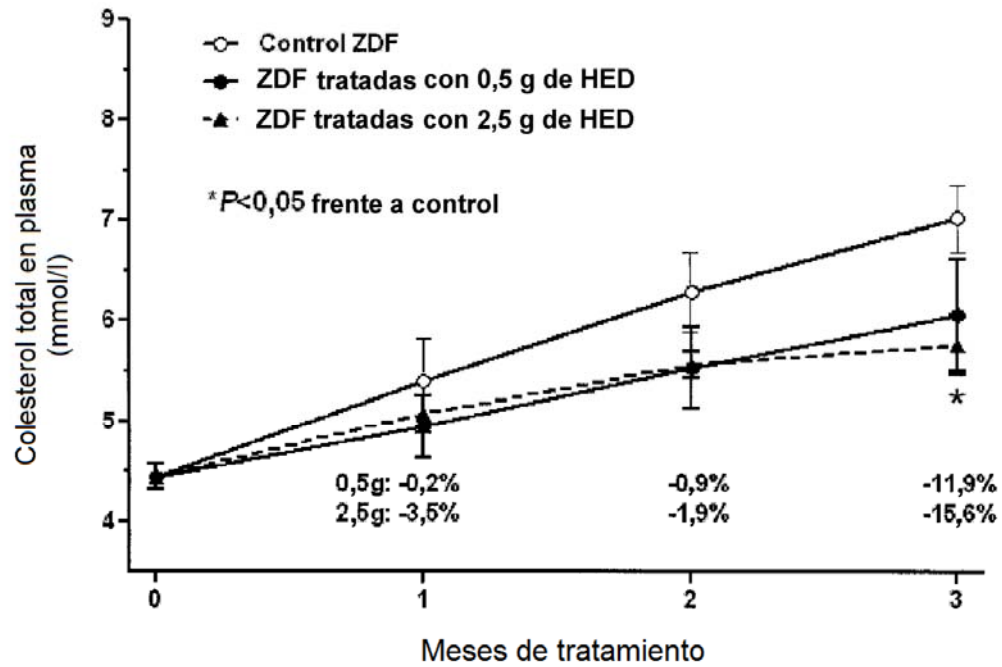


FIGURA 28

Efectos de la composición 3 en bioindicadores de lípidos en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas

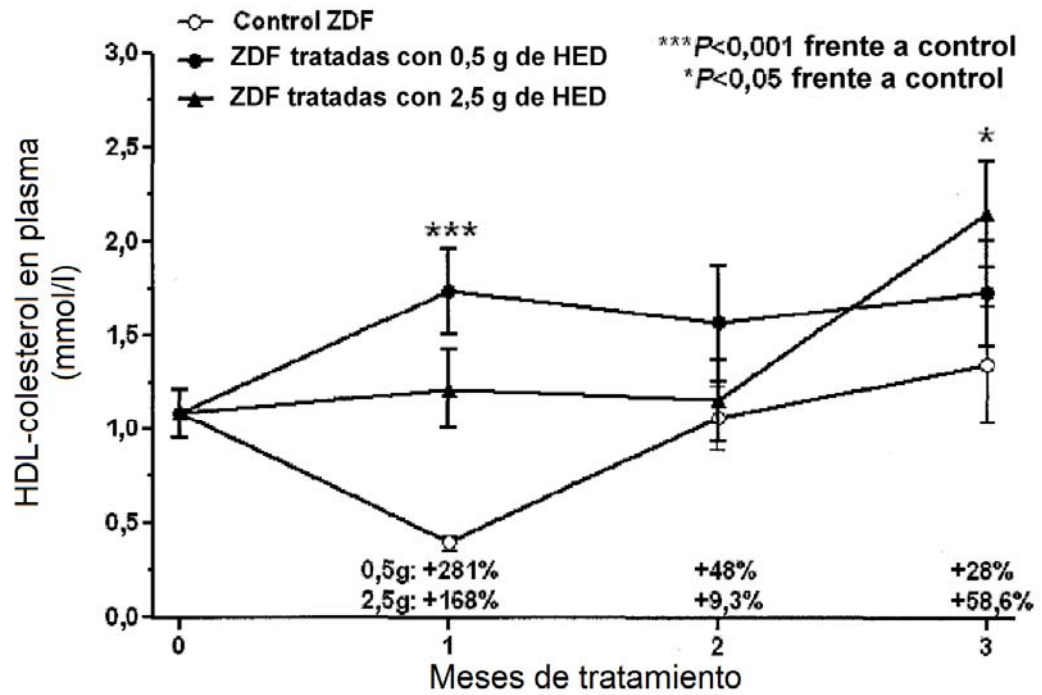


FIGURA 29

Efectos de la composición 3 en bioindicadores de lípidos en ratas macho ZDF en comparación con los controles de edades parecidas

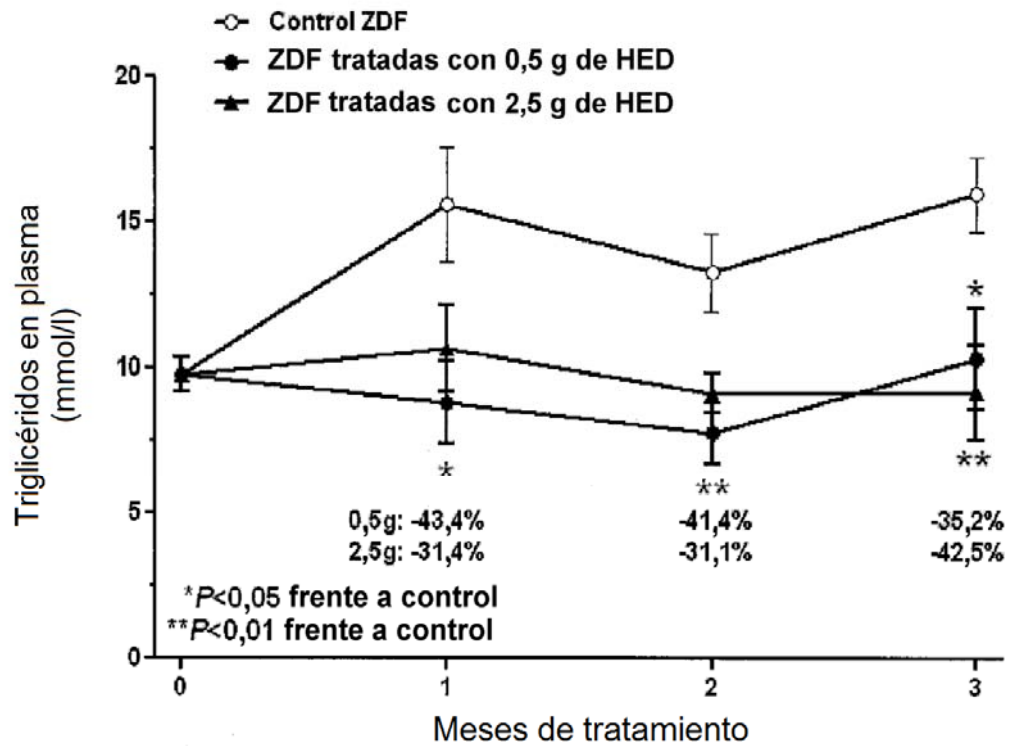


FIGURA 30

Efectos de la composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho ZDF

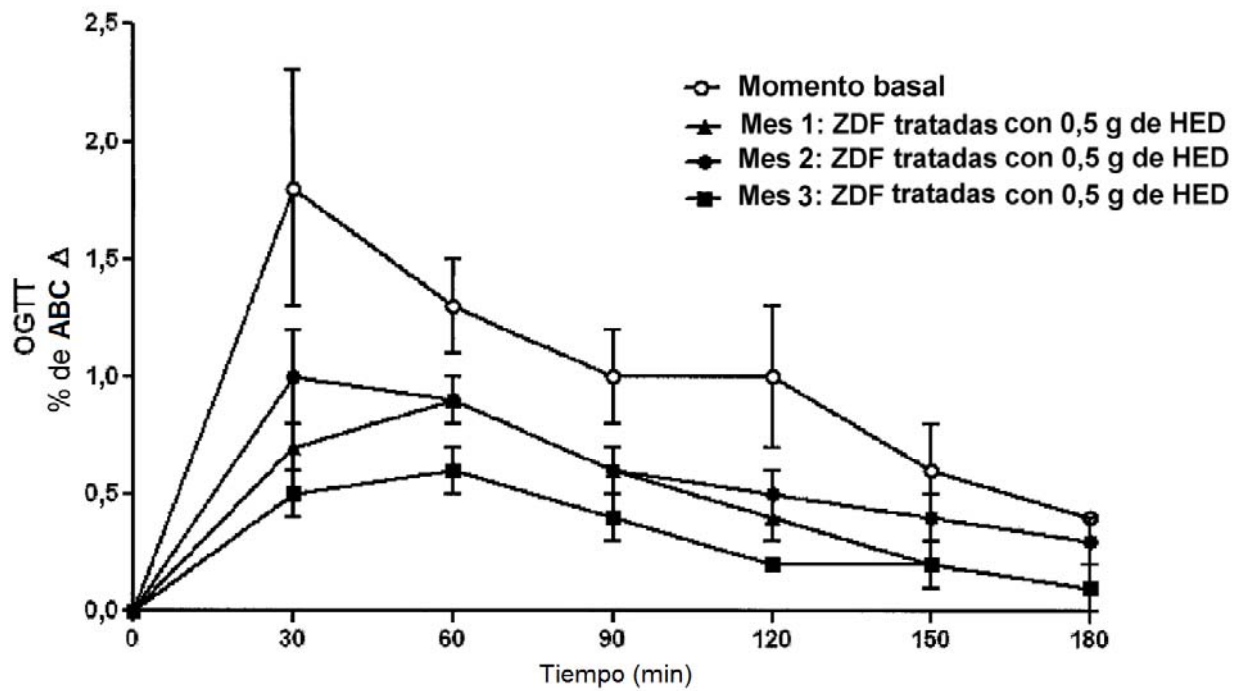


FIGURA 31

Efectos de la composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho ZDF

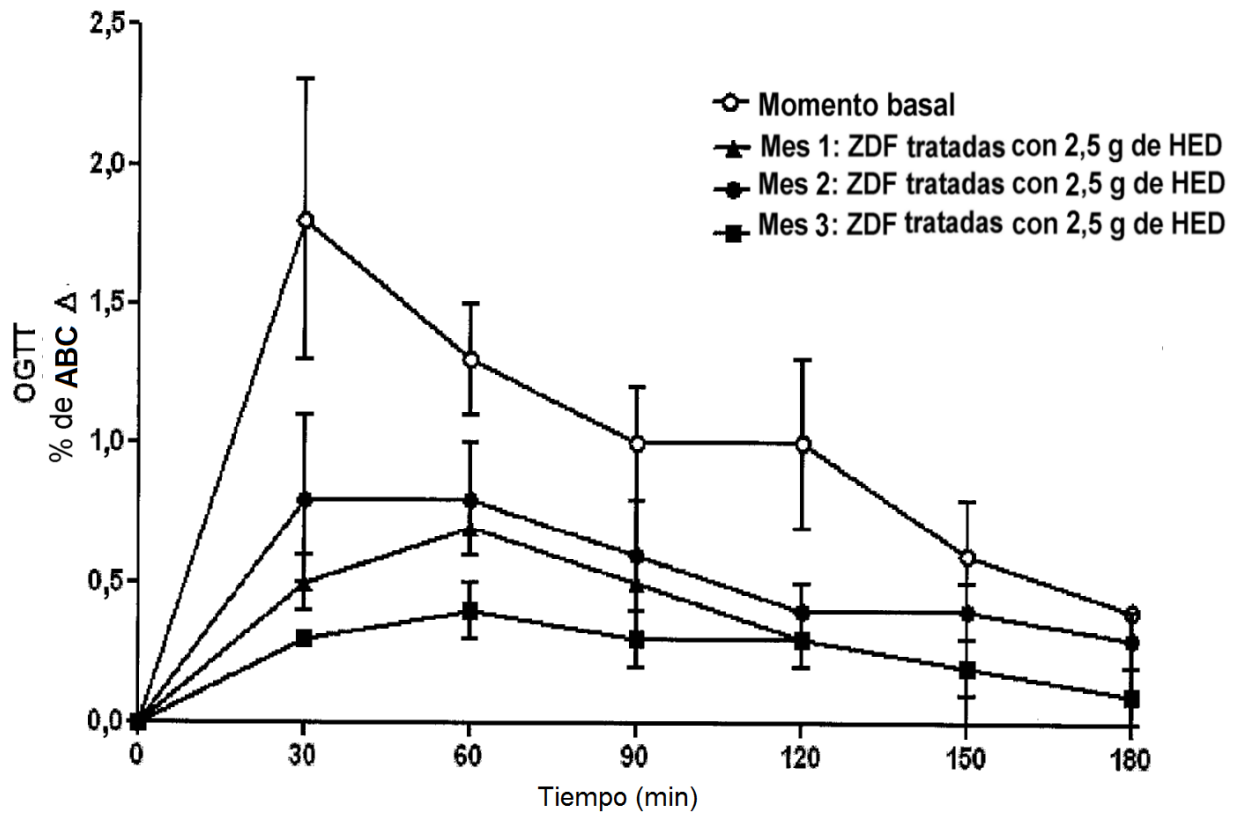


FIGURA 32

Efectos de la composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho SD

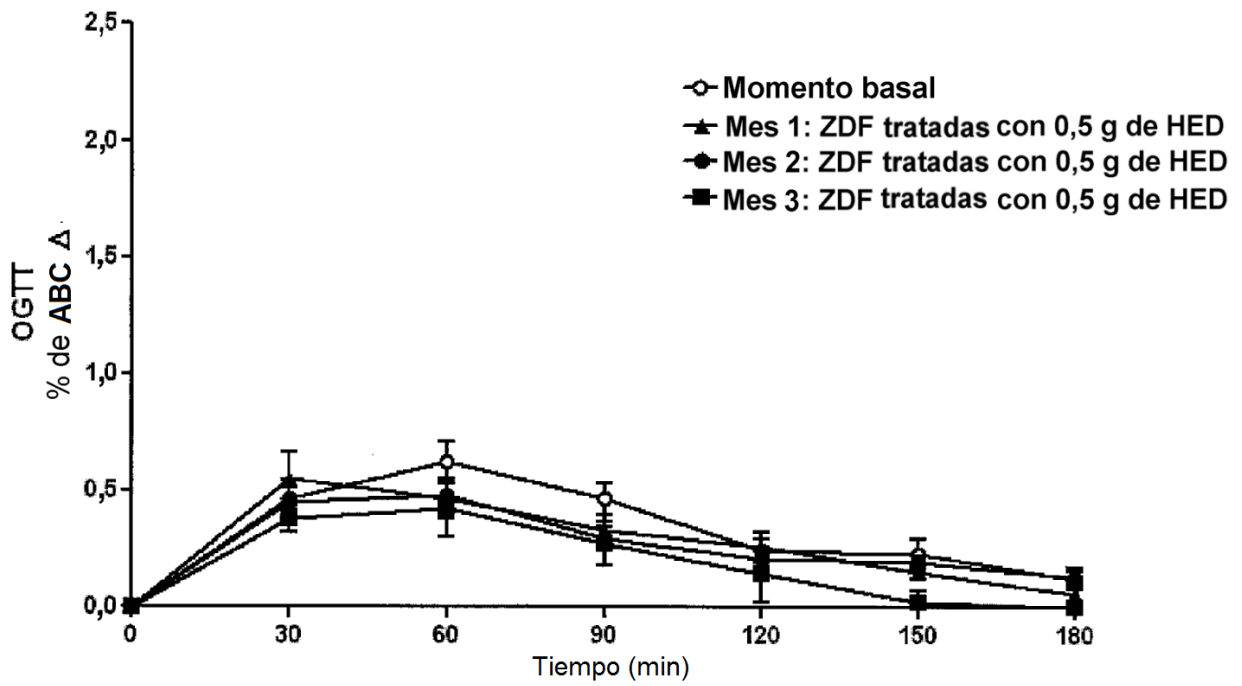


FIGURA 33

Efectos de la composición 3 sobre la intolerancia a la glucosa en ratas macho SD

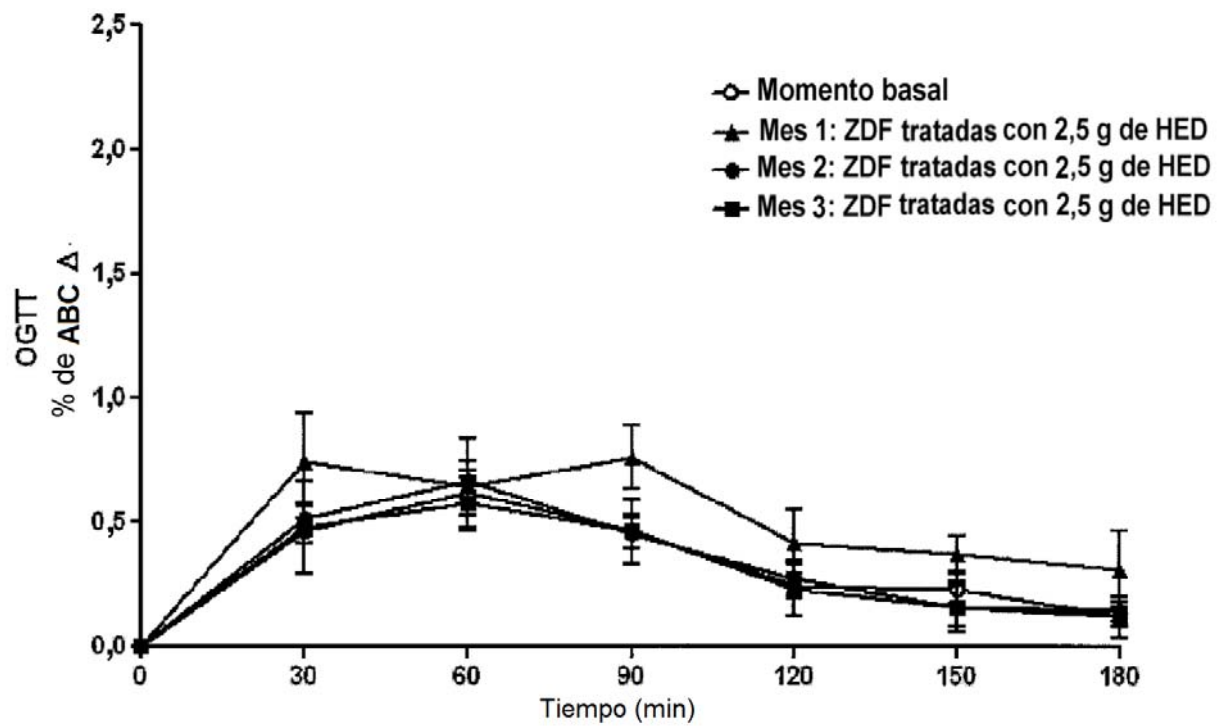
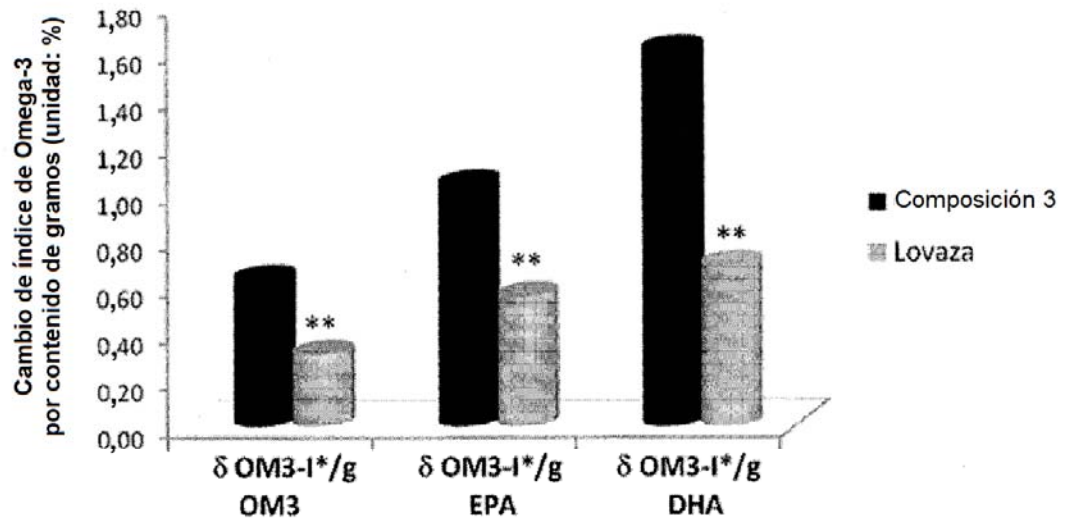


FIGURA 34

Efectos comparativos de la composición 3 y Lovaza® en el índice de Omega-3



	Δ OM3I/G OM3	Δ OM3I/G EPA	Δ OM3I/G DHA
Comp. 3 1g	62,85%	103,26%	160,62%
Lovaza 4g	30,65%	55,37%	68,65%
Δ Comp. 3 frente a Lovaza	105,70%	86,49%	133,95%

FIGURA 35

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de referencias citadas por el solicitante es, únicamente, para conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Si bien se ha tenido gran cuidado al compilar las referencias, no pueden excluirse errores u omisiones y la OEP declina toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- WO 61256106 A [0001]
- US 20040234587 A [0015] [0061]
- WO 200023546 A [0015]
- US 2009118227 A1 [0017]
- JP 10155459 A [0017]
- WO 2005011712 A1 [0017]
- WO 9739759 A2 [0017]
- EP 2085089 A1 [0017]
- WO 03072111 A2 [0017]
- WO 2005037848 A2 [0017]
- WO 2008117062 A1 [0017]
- WO 03011873 A2 [0017]
- WO 02102394 A2 [0017]
- US 20090074857 A [0061]
- US 20080274203 A [0061]
- US 7034168 B [0061]

Literatura no patente citada en la descripción

- ROSAMOND W et al. *Circulation*, 2007, vol. 115, e69-el71 [0004]
- BUNEA et al. *Alt. Med. Rev.*, 2004, vol. 9 (4), 420-428 [0017]
- GRUPP et al. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 1999, vol. 31, 297-303 [0045] [0066]
- LUCIEN, F. P. et al. *Australas Biotechnol.*, 1993, vol. 3, 143-147 [0061]
- L.S. GOODMAN et al. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1975, 201-26 [0090]