(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 666 836**

(51) Int. Cl.:

A61K 47/12 (2006.01)
A61K 47/24 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61K 31/232 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.06.2014** **E 14001941 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018** **EP 2952209**

(54) Título: **Formulaciones homogéneas que comprenden ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol para administración oral**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.05.2018

(73) Titular/es:

ALFASIGMA S.P.A. (100.0%)
Viale Sarca, 223
20126 Milano, IT

(72) Inventor/es:

SANTANIELLO, MOSÈ y
GIANNINI, GIUSEPPE

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 666 836 T3

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

DESCRIPCIÓN

Formulaciones homogéneas que comprenden ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol para administración oral

Campo de la invención

La presente invención se refiere a formulaciones homogéneas que comprenden ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y resveratrol para administración oral, en las que el resveratrol se solubiliza en un sistema disolvente que consiste en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) o en ésteres alquílicos de los mismos, y un emulsionante iónico.

En particular, la presente invención se refiere a las formulaciones homogéneas mencionadas antes, para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares debidas a trastornos del metabolismo y a una agregación de plaquetas incrementada, así como a daños debidos a radicales libres y/o enfermedades víricas.

Antecedentes de la invención

Las enfermedades cardiovasculares relacionadas con un metabolismo de lípidos anormal son muy frecuentes en países industrializados. En Italia, por ejemplo, según los datos de la Organización Mundial de la Salud publicados en abril de 2011, el número de decesos en Italia por enfermedades cardiovasculares alcanzó el 18,65% de toda la mortalidad. Nuestro conocimiento de la relación entre el nivel de colesterol y las enfermedades coronarias del corazón parte de estudios epidemiológicos llevados a cabo en los últimos años. Las conclusiones obtenidas de estos estudios indican que el desarrollo de aterosclerosis coronaria grave y de enfermedad coronaria del corazón está estrechamente relacionado con los niveles de colesterol en suero (Breuer, H.W. M., European Cardiology, 2005, 1-6).

Las plaquetas desempeñan una función importante, aunque a menudo subestimada, en la enfermedad cardiovascular. Por ejemplo, la respuesta normal de las plaquetas puede alterarse, tanto por un aumento de estímulos pro-agregadores como por una reducción de sustancias anti-agregadoras para producir las condiciones de incremento de activación/agregación plaquetaria que se producen en los estados de enfermedad cardiovascular, tanto desde el punto de vista crónico (p.ej., angina de pecho estable) como del agudo (p.ej., infarto de miocardio agudo). Adicionalmente, la hiper-agregabilidad de plaquetas también está asociada a factores de riesgo de enfermedad de arteria coronaria (p.ej., ser fumador, hipertensión e hipercolesteremia). Finalmente, la utilidad de un rango incrementado de terapias anti-plaquetarias en la gestión de los estados de enfermedad mencionados enfatiza además en el papel fundamental que desempeñan las plaquetas en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular. Un artículo publicado recientemente proporciona una visión completa del papel fisiológico normal de las plaquetas en el mantenimiento de la homeostasis, los procesos patofisiológicos que contribuyen a la disfunción plaquetaria en la enfermedad cardiovascular y el papel asociado y los beneficios de las terapias anti-plaquetarias (Kottke-Marchant K.: Cleveland Clinic Journal of Medicine; 2009 Abril; 76(1): 1-7).

Cada vez hay una mayor evidencia de que la mayoría de las enfermedades degenerativas que afligen a la humanidad tienen su origen en reacciones de radicales libres perjudiciales. Dichas enfermedades incluyen aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria de articulaciones, asma, diabetes, demencia senil y enfermedad ocular degenerativa. El proceso de envejecimiento biológico también podría estar basado en radicales libres. La mayor parte del daño de radicales libres en células implica radicales libres de oxígeno o, de forma más general, especies de oxígeno activadas (AOS) que incluyen especies no radicalarias, tales como oxígeno singlete y peróxido de hidrógeno, y radicales libres. Las AOS pueden dañar el material genético, producir la peroxidación de lípidos en la membrana celular, e inactivar las enzimas ligadas a membrana. La suplementación de nuestra dieta con antioxidantes es necesaria para asegurar una población mayor más sana (Aust N Z J Ophthalmol. 1995 Feb; 23(1): 3-7).

Los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) han demostrado tener un efecto beneficioso en la prevención de eventos cardiovasculares (Aarsetoey H. et al.; Cardiology Research and Practice, Volumen 2012: 1-16), posiblemente a través de un mecanismo anti-inflamatorio, anti-trombótico y anti-arrítmico (Sethi S. et al.; Blood 2002: 100:-1340-6; Billman GE, et al.; Circulation 3 1999: 99: 2452-7). El efecto hipolipídico fue el primero detectado, por lo que estos fármacos fueron usados en primer lugar para el tratamiento de trastornos dislipidémicos, mientras que los efectos anti-inflamatorios, anti-trombóticos, anti-ateroscleróticos y anti-arritmogénicos se han descubierto más tarde. En ensayo de prevención GISSI (Lancet 1999, 354: 447-55) fue el primer ensayo que demostró la eficacia y la tolerabilidad de n-3 PUFAs en pacientes que habían sufrido un infarto de miocardio. Según la evidencia disponible en bibliografía, hoy los n-3 PUFAs están indicados para la prevención primaria y secundaria de cardiopatía isquémica y de muerte cardiaca súbita (SCD) (Mori TA, Beilin L J. *Long-chain omega-3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction*. Curr. Opin. Lipidol. 2001; 12: 11-7). En “Nutrition and Dietary Supplements”, 2011 septiembre, 14: 93-100, se describe el papel de la serie n-3 de ácidos grasos poliinsaturados en la prevención de enfermedad cardiovascular.

El resveratrol (trans-3,4’,5-trihidroxistilbeno) es una molécula de polifenol localizada en la piel de las uvas negras. Se sabe que presenta efectos cardioprotetores, actuando como inhibidor de la agregación plaquetaria (Szmitko PE, et

al. Circulation Enero 2005, 111 (2) p. 10-11; Das DK, et al. "Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine"; Mol. Interv., 2006, 6 (1): 36-47). También actúa como antioxidante y agente protector de la piel (Afaq, Farrukh et al. "Botanical antioxidants in the prevention of photocarcinogenesis and photoaging"; Experimental Dermatology, 2006, 15 (9): 678-84). El resveratrol ha sido estudiado recientemente de forma intensiva, en relación a las propiedades beneficiosas conocidas del vino tinto, del que es uno de los ingredientes fundamentales (Life Sci., 71, 2145-52, 2002). Numerosos estudios han demostrado una actividad anticarcinogénica del resveratrol, cuyos mecanismos de acción se han subdividido de la siguiente manera: inhibición de la activación del factor de transcripción NF-kB, capaz de regular la expresión de varios genes implicados en los procesos inflamatorios y carcinogénicos (Lancet, 341, 1103-1104, 1993; Science, 275, 218.220, 1997; Proc. Natl. Acad. Sci., 94, 14138-14143, 1997; Life Science, 61, 2103-2110, 1997; Brit. J. Pharm., 126, 673-680, 1999; J. Imm., 164, 6509-6519, 2000); la inhibición de varias proteínas, que incluyen proteína quinasa C (Stewart, J.R., Ward, N.E., Ioannides, C.G. y O'Brian, C.A., “Resveratrol preferentially inhibits protein kinase C-catalyzed phosphorylation of a cofactor-independent, arginine-rich protein substrate by a novel mechanism”, Biochemistry. 1999, 38, 13244-13251), ribonucleótido reductasa (FEBS Lett., 421, 277-279, 1998) y ciclo-oxigenasa-2 (COX-2) en células epiteliales de mamífero (Steinmetz KL, Tyson CK, Meierhenry EF, Spalding JW, Mirsalis JC. “Examination of genotoxicity, toxicity and morphologic alterations in hepatocytes following *in vivo* or *in vitro* exposure to methapyrilene”. Carcinogenesis. 1988 Jun; 9(6): 959-963)); activación de caspasas 2, 3, 6 y 9 (FASEB J., 1613-1615, 2000) y modulación del gen p53, que es un conocido supresor tumoral (Soleas GJ, Goldberg DM, Grass L, Levesque M, Diamandis EP. “Do wine polyphenols modulate p53 gene expression in human cancer cell lines?” Clin Biochem 2001; 34: 415-420).

En Free Radic. Res., 33, 105-114, 2000, se describe la actividad antioxidante del resveratrol y su capacidad para contrarrestar los efectos dañinos producidos por varias sustancias y/o condiciones que producen estrés oxidativo intracelular.

En el documento EP1567137B1 se describe el uso de resveratrol para tratar infecciones de virus de la gripe.

El documento WO 2011161501 describe composiciones sólidas en forma de polvo o granulados, en las que el ingrediente activo es insoluble o poco soluble en agua y/o termolábil y/o presenta propiedades organolépticas desagradables. El método descrito es una dispersión en una matriz de lípidos que contiene un triglicérido, un polioxietilen sorbitán éster y palmitato de ascorbilo.

La Solicitud de Patente WO 2011120530 describe composiciones de vehículo inerte sólido poroso que comprenden un dióxido de silicio poroso (sílice) y un agente potenciador de la liberación que puede ser cargado con aceites farmacéuticos, entre otros aceite de pescado. En el documento EP2517697 se describe un ejemplo de preparación de composiciones que comprenden n-3 PUFA en combinación con uno o más ingredientes activos. En particular, se describen suspensiones de microcápsula que comprenden una o más estatinas en ésteres alquílicos de n-3 PUFA, en donde las estatinas son aisladas del contacto con el éster alquílico de n-3 PUFA por medio de una membrana polimérica que puede desintegrarse fácilmente en el medio gastrointestinal.

La Solicitud de Patente WO 01/26666 A2 describe una composición para uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos circulatorios, que comprende entre otros resveratrol, ácidos poli-insaturados omega-3 y fosfatidilcolina. La mayoría de los métodos conocidos en la técnica, útiles para preparar composiciones que contienen resveratrol y n-3 PUFA, incluyen procesos de microencapsulación o recubrimiento que son largos y caros. Estos estudios están enfocados a la obtención de métodos de administración adecuados para el resveratrol en una dosis individual dentro de una fase oleaginosa.

En la técnica, no se conocen métodos para la solubilización de resveratrol en n-3 PUFA.

De hecho, el resveratrol, aunque mantiene unas cualidades muy buenas como agente estabilizante en la prevención o reducción de la degradación de n-3 PUFA, es casi insoluble en la mayoría de fases oleaginosas usadas en los protocolos de preparación de medicinas y productos nutracéuticos. Incluso la adición de determinados emulsionantes y/o co-tensioactivos resulta ineficaz para obtener el propósito deseado. Considerando las ventajas del resveratrol en combinación con n-3 PUFA para uso médico o nutracéutico, es cada vez más destacable la necesidad de obtener un método eficiente para solubilizar resveratrol en una fase oleaginosa.

Descripción de la invención

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que mediante el uso de un sistema disolvente, que consiste en un emulsionante iónico (una lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites) y ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA), ahora es posible obtener una solubilización completa de una cantidad significativa de resveratrol en dicho sistema disolvente.

Por tanto, un objetivo de la presente invención es una composición que comprende:

(1) un sistema disolvente que consiste en:

ácidos grasos poliinsaturados omega-3 o ésteres alquílicos de los mismos;

un emulsionante iónico seleccionado del grupo que consiste en lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites; o lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites en donde dicha fosfatidilcolina está presente en una cantidad superior al 92%, o Epikuron™ 200; y

(2) resveratrol, o un extracto natural que contenga resveratrol;

y que se caracteriza además porque el resveratrol en una cantidad superior o igual a 5 mg por 1 mL de sistema disolvente está completamente solubilizado. Otro objetivo adicional de la presente invención es la composición mencionada anteriormente en donde la recuperación de n-3 PUFA después de 3 meses a 40ºC es al menos del 94%, después de 3 meses a 30ºC es al menos del 96%, después de 3 meses a 25ºC es al menos del 98% y después de 3 meses a 5ºC es al menos del 99% en peso.

Otro objetivo adicional de la presente invención es la composición mencionada anteriormente en donde la recuperación de resveratrol después de 3 meses a 40ºC es al menos del 85%, después de 3 meses a 30ºC es al menos del 94%, después de 3 meses a 25ºC es al menos del 97% y después de 3 meses a 5ºC es al menos del 99% en peso.

En una realización de la presente invención, los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) o sus ésteres alquílicos, y mezclas de los mismos; y los ésteres alquílicos de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en ésteres de etilo, metilo y propilo.

En una realización adicional de la presente invención los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ácidos grasos que presenta un contenido de EPA y DHA comprendido entre 75% y 95% en peso, preferiblemente al menos 85%, en base al peso total de ácidos grasos, y en donde el contenido total de n-3 PUFA es al menos del 90% en peso sobre el peso de ácidos grasos totales; y la ratio entre ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico está comprendida entre 0,5 y 2.

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

Objetivo adicional de la presente invención es una composición que comprende:

(1) un sistema disolvente que consiste en:

ácidos grasos poliinsaturados omega-3 o ésteres alquílicos de los mismos;

un emulsionante iónico seleccionado del grupo que consiste en lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites; o lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites en donde dicha fosfatidilcolina está presente en una cantidad superior al 92%, o Epikuron™ 200; y

(2) resveratrol, o un extracto natural que contenga resveratrol;

en donde el resveratrol en una cantidad superior o igual a 5 mg por 1 mL de sistema disolvente está completamente disuelto en el sistema disolvente, permitiendo la obtención de una composición homogénea, en la forma de un suplemento dietético o nutricional, o de un medicamento para administración oral.

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

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

Según una realización adicional de la presente invención, la composición mencionada anteriormente puede comprender además al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otro objetivo adicional de la presente invención es la composición mencionada anteriormente, que se caracteriza por estar encapsulada en cápsulas de gelatina blanda, presentando opcionalmente un recubrimiento entérico, para administración oral.

Otro objetivo adicional de la presente invención es la composición mencionada anteriormente, para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares originadas por trastornos del metabolismo de lípidos y/o por un aumento de la agregación de plaquetas; y/o de daños producidos por radicales libres, seleccionados del grupo que consiste en aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria articular, asma, diabetes, demencia senil y trastorno ocular degenerativo; y/o enfermedades víricas.

Otro objetivo adicional de la presente invención es la composición mencionada anteriormente, que opcionalmente comprende además 2-(2-etoxietoxi)etanol.

El término “cantidad significativa”, según la presente invención significa que una cantidad de resveratrol superior o igual a 5 mg por 1 mL de sistema disolvente está completamente solubilizada.

El término “homogéneo”, según la presente invención significa que no hay separación de fases, no hay partículas suspendidas, no hay precipitado sólido, y el soluto (resveratrol) está completamente disuelto en el sistema disolvente.

Otro objetivo adicional de la presente invención es un método para la preparación de la composición de la invención que comprende: preparar una disolución de sistema disolvente que consiste en lecitina enriquecida en fosfatidilcolina libre de aceites y n-3 PUFA; y añadir a dicha disolución de sistema disolvente resveratrol; derivando en una disolución “homogénea” en la que el resveratrol esté completamente disuelto que se obtiene como se indica a modo de ejemplo en la sección experimental.

La composición según la invención también puede comprender otros elementos útiles, sin que esto afecte de forma sustancial a la actividad. Un ejemplo no limitativo de elementos útiles según la presente invención comprende una o más vitaminas, minerales, coenzimas, antioxidantes y/o extractos vegetales.

Un objetivo adicional de la presente invención es una composición que contiene los elementos mencionados anteriormente, opcionalmente en una mezcla con uno o más vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La composición farmacéutica adecuada para uso según la presente invención generalmente comprende al menos un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable y/o un tensioactivo y/o un espesante y/o un aglomerante y/o un lubricante y/o un aromatizante y/o un colorante y/o un estabilizante, y similares, que pueden ser seleccionados fácilmente por el experto en la técnica.

La composición de la invención, junto con un adyuvante, vehículo, diluyente o excipiente empleado convencionalmente puede prepararse en la forma de composiciones farmacéuticas y dosis unitarias de las mismas, y dicha forma puede emplearse como un sólido, tal como en comprimidos o cápsulas rellenas; o como un líquido tal como en disoluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas con las mismas, todos para uso oral. Las composiciones para administración oral pueden adoptar la forma de disoluciones o suspensiones líquidas a granel, o de polvos a granel. Sin embargo, más habitualmente las composiciones se presentan en formas de dosis unitarias para facilitar una dosificación precisa. El término “formas de dosis unitarias” se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con tampones, agentes de suspensión y dispensadores, colorantes, aromatizantes y similares.

Los componentes descritos anteriormente para ser administrados oralmente son meramente representativos. Otros materiales y técnicas de procesado, y similares, se describen en la Parte 5 de “Remington's Pharmaceutical Sciences”, 20ª Edición, 2000, Merck Publishing Company, Easton, Pennsylvania. La composición según la presente invención también puede formularse como suplemento alimenticio o suplemento dietético, lo cual constituye un objetivo adicional de la invención. La composición según la presente invención comprende ingredientes activos que son conocidos en la técnica y que ya se usan en la práctica clínica. Por lo tanto, son fáciles de producir, en tanto en cuanto son productos que han estado en el mercado durante algún tiempo y presentan un grado adecuado para administración a humanos o animales.

El resveratrol (3,5,4’-trihidroxi-trans-estilbeno) es un estilbenoide, un tipo de fenol natural, y una fitoalexina producida de forma natural por varias plantas cuando se encuentran bajo ataque de patógenos tales como bacterias u hongos.

El término “ácidos grasos poliinsaturados omega-3” (en la presente memoria abreviado como “n-3 PUFA”) se refiere a una familia de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, generalmente C_{16}-C_{24}, en particular aquellos que tienen una cadena C_{20}-C_{22}, que tienen en común un doble enlace carbono-carbono en la posición n-3, es decir, el tercer enlace desde el extremo metilo del ácido graso. Los ejemplos de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 más habituales en la naturaleza se presentan en la Tabla mostrada a continuación, junto con sus nombres asignados.

Nombre común	**Nombre de lípido**	**Nombre químico**
Ácido rugánico	16:3 (*n*-3)	ácido *all-cis*-7,10,13-hexadecatrienoico
Ácido α-linolénico (ALA)	18:3	ácido *all-cis*-9,12,15-octadecatrienoico

Nombre común	Nombre de lípido	Nombre químico
	(*n-3*)	
Ácido estearidónico (STD)	18:4 (*n*-3)	ácido *all-cis*-6,9,12,15-octadecatetraenoico
Ácido eicosatrienoico (ETE)	20:3 (*n*-3)	ácido *all-cis*-11,14,17-eicosatrienoico
Ácido eicosatetraenoico (ETA)	20:4 (*n-3*)	ácido *all-cis*-8,11,14,17-eicosatetraenoico
Ácido eicosapentaenoico (EPA)	20:5 (*n-3*)	ácido *all-cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico
Ácido docosapentaenoico (DPA), ácido clupanodónico	22:5 (*n-3*)	ácido *all-cis*-7,10,13,16,19-docosapentaenoico
Ácido docosahexaenoico (DHA)	22:6 (*n*-3)	ácido *all-cis*-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoico
Ácido tetracosapentaenoico	24:5 (*n-3*)	ácido *all-cis-9,12,15,18, 21*-tetracosapentaenoico
Ácido tetracosahexaenoico (Ácido nisínico)	24:6 (*n*-3)	ácido *all-cis*-6,9,12,15,18,21-tetracosahexaenoico

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

Preferiblemente, el n-3 PUFA según la invención es una mezcla de ácidos grasos que presenta un contenido elevado de EPA y DHA, por ejemplo, con un contenido de EPA y DHA superior al 25% en peso, preferiblemente entre aproximadamente 30% y aproximadamente 100% en peso, en particular aproximadamente entre 75% y 95%, y más preferiblemente al menos 85% en peso, en base al peso total de ácidos grasos. Preferiblemente, el contenido de n-3 PUFA según la invención es una mezcla de ácidos grasos que tiene al menos un 90% de n-3 PUFA en peso, en base al peso total de ácidos grasos.

Los términos “PUFA” y “n-3 PUFA”, tal como se usan en la presente memoria, pretenden abarcar sus correspondientes ésteres de alquilo C_1-C_3, preferiblemente ésteres de etilo, y/o sus sales con bases farmacéuticamente aceptables tales como hidróxido sódico, lisina, arginina o aminoácidos tales como colina. Los ésteres de etilo son los más ampliamente usados y preferidos según la invención.

La composición de la invención se administra oralmente, en particular en la forma de cápsulas de gelatina blanda. Para uso oral, la dosis unitaria generalmente comprende 100-1000 mg de ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega-3, preferiblemente 500-1000 mg o 300-500 mg, siendo la dosis total habitualmente de aproximadamente 0,1-3,0 g al día, preferiblemente de 0,3-2,0 g al día, lo más preferiblemente de 1,0 g al día.

Los fármacos específicos que contienen n-3 PUFA que cumplen las anteriores especificaciones, como ingredientes activos, y que pueden usarse según la presente invención, ya se encuentran disponibles en el mercado.

Esta cantidad de producto puede administrarse en la forma de varias dosis divididas diarias o preferiblemente como una única dosis, a fin de alcanzar el nivel sanguíneo deseado. Por supuesto, el médico responsable puede variar la cantidad de producto (o de la mezcla con otro agente terapéutico) a administrar, en función de las condiciones, edad y peso del paciente.

Para los propósitos de la invención también son adecuados otros tipos de formulación para administración oral; por ejemplo cápsulas duras o comprimidos, en donde los ácidos grasos poliinsaturados son adsorbidos sobre soportes sólidos. También es posible usar emulsiones, granulados en excipientes dispersantes, jarabes, gotas, etc., y otras formas de administración capaces de asegurar una absorción sistémica del fármaco, tal como disoluciones o emulsiones estériles, y similares, adecuadas para uso parenteral, según sea evaluado por el especialista en la técnica, en base a la gravedad de la patología.

Las composiciones ilustradas en la Farmacopea Europea 2000 (EuPh, 2000), que contienen cantidades iguales o superiores al 90% p/p de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) y de ésteres etílicos de ácidos grasos poliinsaturados omega-3, de los cuales una fracción igual o superior al 80% p/p está representada por mezclas de ésteres de etilo de EPA y DHA, también son adecuadas para los propósitos de la presente invención.

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

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

Las fosfatidilcolinas (PC) son una clase de fosfolípidos que incorporan colina como grupo de cabeza. Son un componente principal de las membranas biológicas y pueden obtenerse fácilmente a partir de una variedad de fuentes fácilmente disponibles tales como yema de huevo o semillas de soja, a partir de las cuales son extraídas mecánicamente o químicamente usando hexano. También son un miembro del grupo de las lecitinas de sustancias grasas amarillo-marronáceas que existen en tejidos animales y vegetales.

Para el propósito de la presente invención, el emulsionante iónico es una lecitina de soja desengrasada y purificada enriquecida con al menos un 92% de fosfatidilcolina, tal como Epikuron™ 200. Es sabido en la técnica que la lecitina de soja posee actividad anticolesterolémica. Por tanto, otra ventaja de la presente invención es que dicha lecitina de soja en combinación con n-3 PUFA y resveratrol aumentará, de un modo aditivo, la actividad farmacológica de la composición de la invención.

Un ejemplo no limitativo de la lecitina según la presente invención es la vendida bajo el nombre comercial “Epikuron™ 200”.

En otra realización de la presente invención, la composición presenta una forma unitaria, en la que los ingredientes activos están presentes en una forma farmacéutica individual, particularmente adsorbidos sobre un soporte inerte. Las composiciones según la presente invención opcionalmente contienen, junto con el ingrediente activo, al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente activo.

Para demostrar sus ventajas sustanciales y los efectos inesperados, la presente invención se lleva a cabo según los siguientes ejemplos, aunque no está limitada por dichos ejemplos.

Descripción detallada de la invención

Ejemplos

***Materiales y Métodos*:**

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

- los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ésteres etílicos de ácidos grasos poliinsaturados con un contenido de EPA y DHA superior al 85%, en una ratio EPA/DHA comprendida entre 0,9 y 1,5, y es un producto proporcionado por SPA (Pronova, Noruega);
- el resveratrol es preparado por Royalmount Pharma, Montreal, Canadá;
- la mezcla de ésteres de glicerilo y polietilen glicol, también conocida con el nombre comercial Labrasol® es preparada por GATTEFOSSE’ ITALIA, S.r.l. (Milán, Italia);
- el monolaurato de propilen glicol, también conocido con el nombre comercial Lauroglycol 90™, es preparado por GATTEFOSSE’ ITALIA, S.r.l (Milán, Italia);
- el polioxietilengliceroltrihidroxiestearato, también conocido con el nombre comercial Cremophor RH 40®, es preparado por BASF Italia Srl;
- el polioxietilen(20)sorbitán monoleato, también conocido con el nombre comercial Tween 80®, es preparado por Sigma-Aldrich; y
- la lecitina enriquecida en fosfatidilcolina desengrasada, también conocida con el nombre comercial Epikuron™ 200 es preparada por Cargill.

Análisis de HPLC:

Se aplicó el mismo método a todas las formulaciones en las que la disolución era transparente a simple vista. La disolución a analizar se dejó en centrifugación mecánica y después se separó el sobrenadante mediante filtración a través de un filtro de PTFE (politetrafluoroetileno) (tamaño de poro 0,22 µm) y se analizó mediante HPLC, usando

una columna Intersil ODS-3 4,6 x 250 mm, una disolución de CH_3CN/H_2O 70/30 + 0,1% de CF_3COOH como eluyente, un caudal de 1 mL/min y un detector UV/Vis (λ = 311 nm).

Análisis de estabilidad:

Las formulaciones fueron divididas en 4 grupos, dejando cada grupo respectivamente durante 3 meses: a 5ºC a 60% de HR (humedad relativa), a 25ºC a 60% de HR, a 30ºC a 60% de HR y a 40ºC a 70% de HR.

A continuación se tomó una muestra de 10 mL y se analizó una cantidad adecuada mediante HPLC con el método descrito anteriormente. La cantidad detectada en porcentaje de EPA, DHA y resveratrol se expresa como % en peso.

Formulación 1

Se añadieron 500 mg de polioxietilen(20)sorbitán monooleato (Tween 80®) a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 3 horas a 22ºC a 60% de HR; se observó una disolución opalescente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Formulación 2

Se añadieron 500 mg de polioxietilenglicoltrihidroxiestearato (Cremophor RH 40®) a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 3 horas a 22ºC a 60% de HR; se observó una disolución opalescente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Formulación 3

Se añadieron 500 mg de ésteres de glicerilo y de polietilen glicol (Labrasol®) a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 3 horas a 22ºC a 60% de HR; se observó una disolución opalescente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Formulación 4

Se añadieron 500 mg de monolaurato de propilenglicol (Lauroglicol 90™) a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 3 horas a 22ºC a 60% de HR; se observó una disolución opalescente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Formulación 5

Se añadieron 500 mg de docusato sódico a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 18 horas a 22ºC a 60% de HR; se observó una disolución amarilla transparente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la disolución y mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Formulación 6

Se añadieron 500 mg de lecitina enriquecida en fosfatidilcolina desengrasada (Epikuron™ 200) a 4,5 g de n-3 PUFA y la disolución se dejó en agitación mecánica a 600 rpm durante 18 horas a 22ºC a 60% de HR. Se observó una disolución amarilla transparente. Se tomó una muestra de 2 mL y se añadieron 50 mg de resveratrol a la misma, la mezcla obtenida se volvió a dejar en agitación mecánica a 600 rpm durante 24 horas a 22ºC. A continuación la disolución se analizó mediante HPLC con el método descrito anteriormente.

Para esta formulación también se llevó a cabo un ensayo de estabilidad. Se midió inicialmente la cantidad en porcentaje de EPA, DHA y resveratrol y a continuación se dividió la disolución en 4 muestras, dejando cada una de ellas 6 meses a una temperatura diferente. Las muestras fueron analizadas entonces mediante HPLC. Los resultados se presentan en la siguiente tabla; después de 6 meses a 40ºC y una HR del 70% se mantiene al menos el 85% del resveratrol en la composición de la medida a tiempo inicial.

Tabla 1

Temperatura (°C)	Recuperación de EPA (%)	Recuperación de DHA (%)	Recuperación de Resveratrol (%)
5	99	99	99
25	98	98	97
30	97	96	94
40	95	94	85

Para facilitar la referencia, en la Tabla 2 se resumen los resultados obtenidos para todas las formulaciones previas, que representan la solubilidad máxima de resveratrol en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) con la adición de los emulsionantes.

Tabla 2

Formul. Nº	Aceite	Emulsionante	Máxima solubilidad de resveratrol (mg/mL)
Control	n-3 PUFA	Ninguno	0,25
1	n-3 PUFA	10% p/p de Tween 80 ®	1,98
2	n-3 PUFA	10% p/p de Cremophor RH 40®	2,47
3	n-3 PUFA	10% p/p de Labrasol®	2,63
4	n-3 PUFA	10% p/p de Lauroglycol 90™	1,77
5	n-3 PUFA	10% p/p de Docusato sódico	0,84
6	n-3 PUFA	10% p/p de Epikuron™ 200	**18,00**

Discusión de los resultados:

Los datos experimentales presentados en esta solicitud demuestran que el sistema disolvente usado permite alcanzar una solubilización completa de una cantidad significativa de resveratrol, que por otro lado es poco soluble en n-3 PUFA.

La solubilidad del resveratrol en PUFA solo (0,25 mg/mL), como se puede observar en los resultados de la Tabla 2, se incrementa en un factor de 72, alcanzando un máximo de 18 mg/mL en la formulación con Epikuron™ 200.

La estabilidad demostrada por la formulación 6 convierte a la disolución de resveratrol en ácidos grasos omega-3 en muy útil para una preparación fácil de composiciones para administración oral, para uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades cardiovasculares debidas a trastornos del metabolismo de lípidos y/o a un aumento de la agregación plaquetaria, de daños debidos a radicales libres y/o enfermedades víricas.

La composición que comprende resveratrol y el sistema disolvente que consiste en ácidos grasos omega-3 y Epikuron™ 200 también podría usarse fácilmente para solubilizar adicionalmente y administrar otros elementos útiles.

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

REIVINDICACIONES

1. Una composición que se caracteriza porque comprende:

a) un sistema disolvente que consiste en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 o ésteres alquílicos de los mismos, y un emulsionante iónico seleccionado del grupo que consiste en lecitina enriquecida en fosfatidilcolina desengrasada, o lecitina enriquecida en fosfatidilcolina desengrasada en donde dicha fosfatidilcolina está presente en una cantidad superior al 92%; y

b) resveratrol, o un extracto natural que contiene resveratrol;

y que adicionalmente se caracteriza porque el resveratrol, en una cantidad superior o igual a 5 mg por 1 mL de sistema disolvente, es solubilizado completamente.

2. La composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se seleccionan del grupo que consiste en ácido eicosapentaenoico (EPA), ácido docosahexaenoico (DHA) o mezclas de los mismos.

3. La composición según la reivindicación 2, que se caracteriza porque la ratio entre el ácido eicopentaenoico y el ácido docosahexaenoico está comprendida entre 0,5 y 2.

4. La composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ácidos grasos que tienen un contenido de EPA y DHA comprendido entre el 75% y el 95% en peso, preferiblemente al menos el 85%, en base al peso total de ácidos grasos, y en donde el contenido total de n-3 PUFA es al menos del 90% en peso del peso total de ácidos grasos.

5. La composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) son una mezcla de ésteres etílicos de EPA y DHA en una ratio comprendida entre 0,9 y 1,5 y el contenido de éster etílico de EPA está comprendido entre 40 y 51% y el contenido de éster etílico de DHA está comprendido entre 34 y 45% en peso del peso total de ácidos grasos.

6. La composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque el éster de alquilo de ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) se selecciona del grupo que consiste en ésteres de etilo, metilo o propilo, o mezclas de los mismos.

7. La composición según la reivindicación 1, que se caracteriza porque los ácidos grasos poliinsaturados omega-3 (n-3 PUFA) están en una cantidad comprendida entre 0,5 y 1,0 g, preferiblemente entre 0,8 y 0,9 g, más preferiblemente 0,9 g.

8. La composición según las reivindicaciones 1-7, en la forma de suplemento dietético o medicamento para administración oral.

9. La composición según las reivindicaciones 1-7, que además comprende una o más vitaminas, minerales, coenzimas, antioxidantes y/o extractos vegetales.

10. La composición según las reivindicaciones 1-7, que además comprende al menos un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

11. La composición según las reivindicaciones 1-7 en forma de cápsulas de gelatina blanda.

12. La composición según las reivindicaciones 1-11, para uso en un método de prevención o tratamiento de enfermedades cardiovasculares debidas a trastornos del metabolismo de lípidos y a un aumento de la agregación plaquetaria; de daños debidos a radicales libres seleccionados del grupo que consiste en aterosclerosis, cáncer, enfermedad inflamatoria articular, asma, diabetes, demencia senil y enfermedad ocular degenerativa; y/o enfermedades virales.