

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 408**

51 Int. Cl.:

**C07C 46/10** (2006.01)

**C07C 50/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.09.2015 PCT/EP2015/070737**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016 WO16038146**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2015 E 15766775 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2018 EP 3191444**

54 Título: **Recristalización de ubidecarenona para biodisponibilidad mejorada**

30 Prioridad:

**10.09.2014 EP 14184327**

**10.09.2014 EP 14184328**

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

**13.05.2019**

73 Titular/es:

**PHARMA NORD APS (100.0%)**

**4-6, Tinglykke**

**6500 Vojens, DK**

72 Inventor/es:

**MOESGAARD, SVEN y**

**PAULIN, HELGE, SCHOUSEN**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

**ES 2 712 408 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**

Recristalización de ubidecarenona para biodisponibilidad mejorada

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que los cristales no son esféricos y en la que la relación del área de la superficie del cristal por volumen - calculada como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 2, y en la que la forma cristalina de la ubidecarenona comprende una pluralidad de partes alargadas en forma de aguja o en forma de cono que tienen una longitud media de por lo menos 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base de menos de 1  $\mu\text{m}$ , extendiéndose o sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central.

10 La invención se refiere además a un método para producir tal forma cristalina de ubidecarenona así como a composiciones que comprenden ubidecarenona.

**Antecedentes de la invención**

La ubidecarenona (también conocida como coenzima Q10 (CoQ10) o ubiquinona), es una 1,4-benzoquinona, en la que Q se refiere al grupo químico quinona, y 10 se refiere al número de subunidades químicas de isoprenilo en su cola.

15 La ubidecarenona está presente en la mayoría de las células eucariotas, principalmente en las mitocondrias. Es un componente de la cadena de transporte de electrones y participa en la respiración celular aeróbica, generando energía en forma de ATP. Hay tres estados redox de la CoQ10: totalmente oxidada (ubiquinona), semiquinona (ubisemiquinona) y completamente reducida (ubiquinol). La capacidad de esta molécula para existir en una forma completamente oxidada y una forma completamente reducida le permite realizar sus funciones en la cadena de transporte de electrones, y como antioxidante, respectivamente. Las concentraciones más altas de ubidecarenona se encuentran en el corazón, el hígado y el riñón.

20 La ubidecarenona está contenida en los alimentos y también se produce de manera endógena en el cuerpo. Funciona tanto como antioxidante como transportador de energía en la membrana interna de las mitocondrias. Como medicamento, se usa para pacientes con insuficiencia cardíaca, y como suplemento alimenticio, se consume con propósitos nutricionales.

25 La ubidecarenona es una sustancia altamente lipófila que es prácticamente insoluble en agua. Es una molécula grande (863 g/mol) que tiene una baja biodisponibilidad cuando se ingiere. Es soluble en etanol, hexano y grasas o aceites. El punto de fusión de Q10 es de 48 °C. La exposición de Q10 a temperaturas más altas durante más tiempo convierte a la ubidecarenona en ubicrominol-9 u otros productos de degradación no deseados.

30 La ubidecarenona se fabrica a granel en forma de un polvo que consiste en cristales romboidales. El solicitante ha analizado los cristales de Q10 de una variedad de productores por microscopía. El tamaño exacto (pero no la forma / forma) de los cristales puede variar debido a diferentes grados de molienda. Sin embargo, en general, tales materiales de gran volumen de API son cristales aplanados que son de aproximadamente 50 x 50  $\mu\text{m}$  de longitud y anchura (con un intervalo de aproximadamente 10 x 10  $\mu\text{m}$  a 200 x 200  $\mu\text{m}$ ), y que tienen una altura de aproximadamente 3  $\mu\text{m}$ .

35 Las imágenes de tales cristales se muestran en las figuras 3 y 4.

40 El documento CN 103819832 A describe un procedimiento para la separación y purificación de coenzima Q10 de microorganismos. Para producir la coenzima Q10 en alta concentración, se añaden cristales de siembra para la inducción de la cristalización, seguido de un lavado con metanol y agua y un subsecuente secado. Se describe un método similar en el documento CN103819326 A. En ningún documento hay una indicación de ninguna estructura cristalina desconocida o sorprendente del producto obtenido.

45 El documento US 4220719 A1 describe un procedimiento para la producción de Coenzima Q10 concentrada a partir de microorganismos seleccionados. Se aplican una serie de etapas de purificación para obtener una alta concentración de coenzima Q10. Los cristales de coenzima Q10 se forman y se recristalizan mediante el uso de alcohol etílico. No se incluye ninguna especificación de la estructura cristalina del producto final, y no hay ninguna indicación en cuanto a ninguna estructura cristalina desconocida o sorprendente del producto que se obtiene.

La solicitud de patente japonesa JPS516106597 A describe el aislamiento de ubiquinona en la forma de cristales de tipo de placa.

50 Estas referencias no describen métodos que conducen a la coenzima Q10 cristalina según la presente invención, que se forman en presencia de composiciones de grasa/aceite particulares y en condiciones controladas específicas dependientes de la temperatura (véase los ejemplos y ejemplos de referencia en la sección experimental).

El polvo de ubidecarenona se puede disolver en grasa o aceite caliente. Las composiciones convencionales de Q10 para consumo humano por lo tanto usualmente comprenden grasa o aceite en los que la Q10 se solubiliza o solubiliza parcialmente dependiendo de la concentración de Q10 y la temperatura.

De este modo, las cápsulas de gel blando que comprenden ubidecarenona y grasa o aceite son bien conocidas en la técnica.

5 Al enfriarse por debajo de su punto de fusión (en la grasa o aceite respectivo), las disoluciones sobresaturadas de Q10 en las composiciones de grasa o aceite tradicionales forman espontáneamente cristales romboidales, típicamente de 50 x 50  $\mu\text{m}$  y que varían de 10 a 200  $\mu\text{m}$ . La ubidecarenona presente en estas composiciones se encuentra en una forma que altera la biodisponibilidad de la Q10. Las formulaciones tradicionales de gel blando consisten en 10 - 200 mg de ubidecarenona y 300 - 1000 mg de grasa o aceite en una cápsula de gel blando. La mayoría de la Q10 presente en tales cápsulas está presente como cristales romboidales. Véase con respecto a esto el ejemplo de referencia 3 en la presente memoria descriptiva.

10 En consecuencia, el suministro de Q10 se ve alterado por la muy baja solubilidad en agua y la baja velocidad de disolución resultante después de la ingestión de las cápsulas que contienen principalmente cristales romboidales de ubidecarenona. En consecuencia, la Q10 plantea problemas significativos en cuanto a suministro al cuerpo humano o animal. La Q10 sin disolver no entrará en el cuerpo humano o animal donde ejerce sus efectos beneficiosos.

15 Se han explorado varias posibilidades para incrementar la velocidad de disolución de Q10 in vivo, la mayoría de las cuales se centran en proporcionar el suministro de Q10 como partículas micronizadas.

Sin embargo, las partículas sustancialmente esféricas resultantes de la micronización son indeseables ya que es difícil trabajar con ellas y tienden a reagregarse durante la formulación y el almacenamiento. Además, la solubilización de Q10 micronizada en grasa o aceite dará como resultado la reaparición de cristales romboidales cuando la Q10 recristaliza en las formulaciones durante el almacenamiento.

20 De este modo, existe una necesidad en la técnica de nuevas composiciones o formas cristalinas de Q10 que proporcionen disolución in vivo incrementada, y que por ello proporcionen una biodisponibilidad mejorada cuando sean ingeridas por sujetos humanos o animales, así como métodos de fabricación para la producción de las mismas.

Además, existe una necesidad en la técnica de composiciones mejoradas que comprendan Q10.

25 La formación de cristales de Q10 en cápsulas de gel blando se puede observar con un microscopio, medir por resonancia magnética nuclear (RMN) o medir directamente después de separar el contenido de una cápsula por centrifugación de alta gravedad. Además, la biodisponibilidad de la ubidecarenona se puede medir complementando a seres humanos en ensayos controlados con diferentes tipos de cápsulas. El ensayo in vitro de los perfiles de liberación con métodos estándar puede simular más la biodisponibilidad.

### Sumario de la invención

30 Durante los experimentos que conducen a la presente invención, se encontró sorprendentemente que se podrían producir nuevas formas cristalinas de ubidecarenona que comprenden una pluralidad de partes alargadas, extendiéndose o sobresaliendo las partes alargadas de una región central. La forma cristalina de Q10 se caracterizó por tener un aspecto visual como un conjunto de puntas que crecen hacia el exterior desde una región central. Otra descripción apropiada es que los cristales en su estructura tridimensional tienen forma de estrella. Se observó que  
35 las relaciones de superficie a volumen de estos nuevos cristales eran comparables o incluso más altas que las de las partículas de Q10 micronizada previamente conocidas.

40 Este hallazgo hizo posible la producción de composiciones que comprenden partículas discretas de Q10, proporcionando cada partícula una alta biodisponibilidad. Estas composiciones proporcionan una biodisponibilidad mejorada de la ubidecarenona. Además, las composiciones proporcionan una vida útil prolongada de la ubidecarenona en forma biodisponible.

45 En consecuencia, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal por volumen - medida en  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 2 y la forma cristalina de ubidecarenona comprende una pluralidad de partes alargadas sustancialmente en forma de aguja o cono que tienen una longitud media de por lo menos 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base de menos de 1  $\mu\text{m}$ , extendiéndose y sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central.

La nueva forma cristalina de ubidecarenona fue obtenible sorprendentemente mediante el uso del método descrito en la parte experimental de la presente solicitud.

50 Esencialmente, el método de la invención comprende las etapas de solubilizar partículas de Q10 en polvo en una composición que comprende grasa o aceite que tiene un bajo punto de fusión (por ejemplo, un triglicérido de baja temperatura fusión que tiene una temperatura de fusión por debajo de 15 °C) y un aceite que tiene un alto punto de fusión (por ejemplo, triglicéridos de alta temperatura de fusión que tienen una temperatura de fusión por encima de 30 °C), seguido de enfriamiento de las composiciones resultantes, preferentemente a una temperatura por debajo del punto de fusión de Q10 (el punto de fusión en la composición respectiva), aún más preferentemente a una temperatura inferior a 37 °C. Se encontró esencial que la temperatura de fusión de los diferentes constituyentes del  
55 aceite (alta vs. baja temperatura de fusión) difiera en por lo menos 10 °C.

Por consiguiente, en una realización, la presente invención se refiere a una composición que comprende ubidecarenona, uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión, y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión un punto de fusión que es por lo menos 10 °C más bajo que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión.

5 En una realización altamente preferida, el triglicérido de baja temperatura de fusión tiene un punto de fusión por debajo de 15 °C.

En una realización altamente preferida, el triglicérido de alta temperatura de fusión tiene un punto de fusión que supera los 30 °C.

10 Por consiguiente, en una realización preferida, la presente invención se refiere a una composición que comprende ubidecarenona, uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión, y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión por debajo de 15 °C, y teniendo dichos triglicéridos de alta temperatura de fusión puntos de fusión que superan los 30 °C.

La invención se refiere además a un método para producir las nuevas formas cristalinas de Q10, comprendiendo el método las etapas de:

15 a. proporcionar una composición de grasa o aceite que comprende uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión por lo menos 10 °C más bajos que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión,

b. solubilizar ubidecarenona en la composición de la etapa a),

20 c. bajar la temperatura de la composición de la etapa b) a una temperatura por debajo de 40 °C, proporcionando por ello una composición sobresaturada, durante un período suficiente para permitir la formación de los cristales de Q10 según la invención, y

d. opcionalmente, enfriar la composición de la etapa c) a temperatura ambiente.

25 Más preferentemente, el método de la invención para producir las nuevas formas cristalinas de Q10 comprende las etapas de:

a) proporcionar una composición de grasa o aceite que comprende uno o más triglicéridos de baja temperatura y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión que son por lo menos 10 °C más bajos que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión,

30 b) solubilizar ubidecarenona en la composición de la etapa a),

c) reducir la temperatura de la composición de la etapa b) a una temperatura por debajo de la temperatura a la que la cantidad de Q10 se solubiliza en la composición, proporcionando por ello una composición sobresaturada, durante un período suficiente para permitir la formación de cristales de Q10 según la reivindicación 1, y

d) opcionalmente, enfriar la composición de la etapa c) a temperatura ambiente.

35 Preferentemente, la composición de la etapa a) se calienta a una temperatura que está por encima de la temperatura de fusión del uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión.

Además, se prefiere que la composición de la etapa b) esté saturada o casi saturada con ubidecarenona.

40 Preferentemente, en la etapa a), los triglicéridos de baja temperatura de fusión tienen un punto de fusión de 15 °C o inferior. Además, se prefiere que los triglicéridos de alta temperatura de fusión tengan un punto de fusión de 30 °C o superior.

La etapa b) se realiza preferentemente calentando la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C, seguido de enfriamiento y manteniendo la composición a una temperatura de entre 40 °C y 47 °C, preferentemente 43 °C, durante un período de tiempo suficiente para asegurar la solubilización completa de Q10.

45 Preferentemente, la adición de ubidecarenona se realiza inmediatamente después de calentar la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C. Alternativamente, la adición de ubidecarenona se realiza antes del calentamiento de la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C.

Las composiciones según la invención se pueden introducir en cápsulas de gel blando, por ejemplo, como parte de la etapa opcional d) del procedimiento anterior. El llenado de las composiciones en cápsulas de gel blando se puede conseguir mediante el uso de equipo estándar.

50 La invención se refiere además a cápsulas de gel blando que comprenden la nueva forma cristalina de Q10.

**Definiciones**

"Grasa o aceite de alta temperatura de fusión" según la invención quiere decir, en su sentido más amplio, un triglicérido que tiene un punto (temperatura) de fusión que es por lo menos 10 °C más alto que el punto (temperatura) de fusión de las grasas o aceites de baja temperatura de fusión. Preferentemente, sin embargo, la "grasa o aceite de alta temperatura de fusión" según la invención tiene un punto (temperatura) de fusión de por lo menos 30 °C, según se determina por los métodos apropiados descritos en Ph. Eur. Se describen métodos alternativos en DAB (deutsches Arzneibuch) o en la Farmacopea Británica. La "grasa o aceite de alta temperatura de fusión" según la invención puede ser un triglicérido natural o un triglicérido que ha sido hidrogenado o parcialmente hidrogenado para incrementar la temperatura de fusión. Alternativamente, puede ser un triglicérido natural hidrogenado o parcialmente hidrogenado o un triglicérido natural no hidrogenado, preferentemente, con un punto de fusión de por lo menos 30 °C.

"Aceite o grasa de baja temperatura de fusión" según la invención quiere decir, en su sentido más amplio, un triglicérido que tiene un punto (temperatura) de fusión que es por lo menos 10 °C más bajo que el punto (temperatura) de fusión de las grasas o aceites de alta temperatura de fusión según la invención. Preferentemente, sin embargo, "grasa o aceite de baja temperatura de fusión" según la invención quiere decir un triglicérido con un punto de fusión por debajo de 15 °C determinado por los métodos descritos en Ph. Eur. Se describen métodos alternativos en DAB (deutsches Arzneibuch) o en la Farmacopea Británica.

A menos que se indique lo contrario, las partes, concentraciones o relaciones mencionadas en la presente descripción están basadas en el peso (peso/peso).

La "relación superficie/volumen" según la invención quiere decir el área de la superficie medida en  $\mu\text{m}^2$  dividida entre el volumen medido en  $\mu\text{m}^3$ . Como ejemplo de tal cálculo, un cubo con una longitud, anchura y altura de 1  $\mu\text{m}$  tendrá una "relación de superficie a volumen" según la invención de 6 (un área de la superficie de 6  $\mu\text{m}^2$  y un volumen de 1  $\mu\text{m}^3$ ). Importantemente, la "relación de superficie a volumen" del mismo cubo (1  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ), pero determinada como el área de la superficie medida en  $\text{mm}^2$  dividida entre el volumen medido en  $\text{mm}^3$  daría 6000 (0.000006 dividido entre 0.000000001).

**Breve descripción de las figuras.**

La Figura 1 muestra una imagen microscópica (con un aumento de x1000, siendo cada lado aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ ) de la forma cristalina de ubidecarenona según la invención. El cristal se comprime bajo el vidrio del microscopio. Como se puede ver, el cristal (en su forma tridimensional) tiene forma de estrella y comprende una pluralidad de partes alargadas sustancialmente en forma de aguja o cono que tienen una longitud media de por lo menos 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base de menos de 1  $\mu\text{m}$ , extendiéndose o sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central.

La Figura 2 muestra una imagen microscópica (con un aumento de x1000, siendo cada lado aproximadamente 100  $\mu\text{m}$ ) de la forma cristalina de ubidecarenona según la invención. El cristal se comprime bajo el vidrio del microscopio. Como se puede ver, el cristal (en su forma tridimensional) tiene forma de estrella y comprende una pluralidad de partes alargadas sustancialmente en forma de aguja o en forma de cono que tienen una longitud media de por lo menos 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base inferior de 1  $\mu\text{m}$ , extendiéndose o sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central. Las partes alargadas del cristal mostrado comprenden un crecimiento cristalino adicional en los extremos de las partes alargadas.

Las figuras 3 y 4 muestran una imagen microscópica (con un aumento de x250, siendo los lados aproximadamente de 500  $\mu\text{m}$  y 600  $\mu\text{m}$ , respectivamente) de la forma cristalina API en bruto de ubidecarenona. Como se puede ver, el cristal API es sustancialmente romboidal.

La figura 5 muestra el resultado del experimento realizado en el ejemplo 8, es decir, la concentración en plasma por encima de la concentración de línea base (media  $\pm$  SE) de Q10 durante las primeras 48 horas en el sujeto tratado con las composiciones que comprenden el producto (POW597) que contiene cristales en forma de estrella según la invención (curva superior) frente a la concentración (media  $\pm$  SE) de ubidecarenona en plasma en el sujeto tratado con las composiciones que comprenden el producto de referencia (KOJ786).

**Descripción detallada de la invención**

Durante el trabajo de desarrollo, se ha producido un nuevo tipo de cristales de ubidecarenona.

La nueva forma cristalina de ubidecarenona tiene propiedades mejoradas por el hecho de que proporciona una mayor velocidad de disolución en agua y una biodisponibilidad mejorada in vivo.

Además, los cristales, una vez formados, se pueden mantener en forma estable en composiciones según la invención, comprendiendo dichas composiciones uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión, y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, incluso después del recalentamiento y subsecuente enfriamiento.

La nueva forma de ubidecarenona se produce fundiendo polvo de ubidecarenona en una matriz característica de

grasa/aceite y mezclando los ingredientes según un procedimiento especial a temperaturas e intervalos de tiempo controlados.

5 En una realización preferida, la composición de grasa o aceite usada según la invención para disolver inicialmente el polvo de ubidecarenona, consiste en una matriz de grasa/aceite que comprende un triglicérido natural o hidrogenado que contiene ácidos grasos saturados con altos puntos de fusión, y un triglicérido natural o no hidrogenado que contiene ácidos grasos insaturados con bajos puntos de fusión.

Como se ve en los siguientes ejemplos, los ensayos in vitro en forma de estudios de disolución muestran que los nuevos cristales de ubidecarenona en forma de aguja según esta invención se disuelven más rápida y completamente a una temperatura del cuerpo humano de 37 °C que los cristales romboidales convencionales.

10 Los ensayos de solubilidad in vitro han demostrado que, en la proporción de 100 mg de ubidecarenona a 400 mg de matriz de aceite (que corresponde a las formulaciones de los ejemplos), toda la ubidecarenona está en una forma disuelta a 37 °C después de 10 minutos, si la ubidecarenona se fabrica según la invención. De este modo, los cristales en forma de aguja se disolverán en la matriz de la cápsula de los ejemplos en de 10 a 15 minutos a 37 °C, lo que es más rápido que la desintegración in vitro esperada para las cápsulas de gel blando. En consecuencia, se espera que la etapa limitante de la velocidad en la liberación del fármaco sea la desintegración de las cápsulas. La liberación in vivo del contenido de las cápsulas de gel blando según con la invención, probablemente tendrá lugar a una velocidad algo más lenta, asegurando que toda la ubidecarenona esté disuelta en la matriz de la cápsula antes de que se libere en el tracto GI después de la ingestión oral. Por lo tanto, los cristales de ubidecarenona según la invención se liberan como una disolución en el tracto GI, en lugar de como una mezcla de sustancia farmacéutica disuelta y cristales.

Se considera preferible una porción alta de cristales en forma de aguja (forma de estrella) ( $\geq 99\%$ ) según la presente invención, lo que se asegura solubilizando cuidadosamente toda la ubidecarenona API romboidal en las formulaciones antes de iniciar la formación de los cristales según la invención.

25 Los cristales de ubidecarenona según la invención aparecen en el microscopio como cristales en forma de estrella que comprenden múltiples cilindros en forma de aguja con longitudes medias de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  - 100  $\mu\text{m}$  y diámetros de menos de 1  $\mu\text{m}$  que sobresalen de un núcleo central.

30 La cantidad de ubidecarenona en disolución depende de la temperatura. A temperatura ambiente (20 °C), tanto como el 80% de la ubidecarenona en una cápsula de gel blando según la invención se puede encontrar en cristales, tales como cristales de forma de estrella o aguja según la invención. No se encuentran grandes cristales romboidales en las composiciones según la invención.

Como se ve en la sección experimental, los experimentos in vitro e in vivo han documentado que la ubidecarenona de las cápsulas de gel blando según la invención se absorbe mejor por el cuerpo humano que la ubidecarenona de las cápsulas de gel blando que contienen cristales romboidales.

#### **Nueva forma cristalina según la invención**

35 Los cristales de ubidecarenona producidos según la invención en la matriz de grasa o aceite como se describe, cristalizan en cristales en forma de aguja cuando se enfrían (por debajo de la temperatura de fusión de Q10). Estos cristales aparecen como múltiples cilindros con forma de aguja con longitudes de 2 a 12  $\mu\text{m}$  y diámetros de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  que sobresalen de una región central.

40 Estos cristales también aparecen como múltiples cilindros en forma de aguja con longitudes medias de 10 a 100  $\mu\text{m}$  y diámetros de menos de 1  $\mu\text{m}$  que sobresalen de una región central, es decir, como múltiples cilindros en forma de aguja con longitudes medias de 10 a 100  $\mu\text{m}$  y diámetros de 0.01 - 1  $\mu\text{m}$  que sobresalen de una región central.

La nueva forma cristalina de Q10 estaba caracterizada por tener un área de la superficie del cristal tremendamente incrementada (el área de la superficie en comparación con el volumen de la estructura cristalina).

45 Como los cristales en forma de aguja (haces de agujas) según esta invención son esencialmente cilíndricos, el área de la superficie de cristal al volumen se podría estimar (subestimar) con referencia al área de la superficie (A) y volumen (V) de un cilindro de 10  $\mu\text{m}$  de largo y 1  $\mu\text{m}$  de diámetro:

$$A = 2 \times \pi \times 0.5 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m} + 2 \times \pi \times (0.5 \mu\text{m})^2 = 33.0 \mu\text{m}^2$$

$$V = \pi \times (0.5 \mu\text{m})^2 \times 10 \mu\text{m} = 7.9 \mu\text{m}^3$$

50 El área de la superficie del cristal por 1  $\mu\text{m}^3$  de ubidecarenona en forma de aguja se estima (subestima) por ello que es  $33.0 / 7.9 = 4.2$ .

Una estimación aún más apropiada de la relación entre el área de la superficie del cristal y el volumen de las partículas de Q10 de la invención, sin embargo, podría ser basar la estimación en la superficie/volumen de una estructura en forma de cono correspondiente (calculada excluyendo el área de la superficie de la base), por lo que el

área de la superficie del cristal por volumen se estimaría que es alrededor de 6.

Sin embargo, incluso esta estimación es una subestimación, ya que el diámetro medio de las partes alargadas de los cristales según la invención se estima que es menos de 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro en la base.

5 De este modo, incluso más específicamente, los cristales en forma de aguja según esta invención son esencialmente cilíndricos (haces de agujas), con una longitud media de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base de menos de 0.5  $\mu\text{m}$ , teniendo de este modo una relación aproximada de superficie a volumen de un cilindro de 10  $\mu\text{m}$  de largo que es de 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro:

$$A = 2 \times \pi \times 0.25 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m} + 2 \times \pi \times (0.25 \mu\text{m})^2 = 16 \mu\text{m}^2$$

$$V = \pi \times (0.25 \mu\text{m})^2 \times 10 \mu\text{m} = 2 \mu\text{m}^3$$

10 El área de la superficie del cristal por 1  $\mu\text{m}^3$  de ubidecarenona en forma de aguja se estima por ello que es  $16/2 = 8$ .

Sin embargo, una estimación aún más apropiada del área de la superficie de cristal de las partículas de Q10 de la invención podría ser basar la estimación en la superficie/volumen de una estructura en forma de cono correspondiente (calculada excluyendo el área de la superficie de la base), por lo que el área de la superficie del cristal por volumen se estimaría que es de alrededor de más de 10.

15 En contraste con esto, los cristales romboidales de referencia que aparecen en composiciones y polvos de Q10 convencionales son típicamente  $\sim 50 \times 50 \mu\text{m}$  (variando de aproximadamente  $10 \times 10 \mu\text{m}$  a  $200 \times 200 \mu\text{m}$ ) con una altura de aproximadamente 3  $\mu\text{m}$ .

20 Estos cristales romboidales son esencialmente cuadrados aplanados, y su área de la superficie y volumen se pueden comparar con los de una caja con dimensiones de  $50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m}$ . El área (A) y el volumen (V) de un cristal de este tipo se puede calcular que son:

$$A = 2 \times 50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m} + 4 \times 50 \mu\text{m} \times 3 \mu\text{m} = 5600 \mu\text{m}^2$$

$$V = 3 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m} \times 50 \mu\text{m} = 7500 \mu\text{m}^3$$

El área de la superficie del cristal por 1  $\mu\text{m}^3$  de ubidecarenona romboidal por ello se estima que es  $5600/7500 = 0.75$ .

25 De este modo, los cristales de ubidecarenona en forma de aguja tienen una relación de área de la superficie a volumen de por lo menos 5.6 (4.2: 0.75 = 5.6), pero lo más probablemente alrededor de 8 (6.0:0.75) veces mayor que la de los cristales romboidales.

30 En comparación adicional por lo tanto, los cristales micronizados de Q10 (tamaño y forma de partícula mediana estimado: cristal esférico, radio: 1-2  $\mu\text{m}$ ) tienen un área de la superficie del cristal ( $\mu\text{m}^2$ ) estimada por volumen ( $\mu\text{m}^3$ ) de entre 1.5 (radio 2) y 3 (radio 1).

De este modo, la nueva forma cristalina de la presente invención proporciona un área de la superficie del cristal notablemente incrementada.

35 De este modo, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la forma cristalina de ubidecarenona tiene una forma física no esférica, no romboidal. La forma cristalina de la invención se obtiene sin micronización. Por consiguiente, la invención se refiere a una forma cristalina no micronizada de ubidecarenona, en la que la forma cristalina de la ubidecarenona tiene una forma física no esférica, no romboidal.

40 La invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la forma cristalina comprende una pluralidad de partes alargadas, extendiéndose y sobresaliendo las partes alargadas de una región central. La invención se refiere además a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que las partes alargadas tienen sustancialmente forma de aguja o forma de cono. La invención se refiere además a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que las partes alargadas tienen sustancialmente forma de aguja o forma de cono y tienen una longitud media de por lo menos 10  $\mu\text{m}$  y un diámetro en la base menor de 1  $\mu\text{m}$ . La invención se refiere además a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que las partes alargadas tienen sustancialmente forma de aguja o forma de cono y tienen una longitud media de entre 10 y 100  $\mu\text{m}$  y un diámetro medio en la base de entre 0.001 – 1  $\mu\text{m}$ .

45 La invención se refiere además a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen – medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  – de ubidecarenona es mayor de 2.

En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 3.

50 En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 4.

En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 5.

En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona está entre 5 y 7.

5 En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 6.

En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 7.

10 En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona es mayor de 8.

En otra realización, la invención se refiere a una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal al volumen - medida como  $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^3$  - de ubidecarenona está entre 6 y 10, o incluso entre 6 y 100.

En la realización, la forma cristalina de la ubidecarenona según la presente invención se desea para uso como un medicamento.

15 En otra realización, la invención se refiere al uso de la forma cristalina de ubidecarenona según la presente invención como alimento o suplemento alimenticio.

### Composiciones según la invención

Las composiciones según la invención comprenden ubidecarenona en forma de aguja, y por lo menos un excipiente, preferentemente grasa o aceite en el que se dispersa la ubidecarenona.

20 En una realización preferida, las composiciones según la presente invención comprenden ubidecarenona, por lo menos un triglicérido de baja temperatura de fusión, y por lo menos un triglicérido de alta temperatura de fusión, teniendo dicho triglicérido de baja temperatura de fusión un punto de fusión que es por lo menos 10 °C menor que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión. Estas composiciones se caracterizan por contener cristales de ubidecarenona dispersos a temperatura ambiente (20 °C) y ubidecarenona solubilizada a una temperatura de (37 °C) o superior.

25 En una realización altamente preferida, el triglicérido de baja temperatura de fusión tiene un punto de fusión por debajo de 15 °C. En una realización preferida, el triglicérido de baja temperatura de fusión es una grasa o aceite de origen natural. Los ejemplos de triglicéridos de origen natural de baja temperatura de fusión preferidos son aceite de almendra, aceite de canola, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de semilla de lino, aceite de semilla de uva, aceite de semilla de cáñamo, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de salvado de arroz, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja y aceite de girasol.

30 En una realización preferida, el triglicérido de alta temperatura de fusión tiene un punto de fusión en o alrededor de 25 °C. En una realización preferida, el triglicérido de alta temperatura de fusión es una grasa o aceite de origen natural. Los ejemplos de tales grasas o aceites de alta temperatura de fusión de origen natural preferidos son aceite de semilla de palma y aceite de coco (temperatura de fusión de alrededor de 25 °C). En una realización altamente preferida, el triglicérido de alta temperatura de fusión tiene un punto de fusión que supera los 30 °C.

Los ejemplos de tales triglicéridos de alta temperatura de fusión de origen natural muy preferidos son aceite de palma, manteca de karité y manteca de cacao. Otras grasas o aceites de alta temperatura de fusión muy preferidos son triglicéridos de origen natural que han sido hidrogenados, tales como aceite de soja hidrogenado.

40 Por consiguiente, en una realización preferida, la presente invención se refiere a una composición que comprende ubidecarenona, uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión, y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión por debajo de 15 °C, y teniendo dichos triglicéridos de alta temperatura de fusión puntos de fusión que superan los 30 °C.

45 En una realización aún más preferida, la presente invención se refiere a una composición que comprende ubidecarenona, uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión, y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, siendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión triglicéridos de origen natural que tienen puntos de fusión por debajo de 15 °C, y siendo dichos triglicéridos de alta temperatura de fusión triglicéridos de origen natural que tienen puntos de fusión que superan los 30 °C.

50 Preferentemente, el uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión comprende la mayor parte de la matriz de triglicérido en las composiciones, estando dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión presentes en exceso de los triglicéridos de alta temperatura de fusión. Se encontró que una relación preferida entre grasas y aceites de baja y alta temperatura de fusión está entre 2:1 - 100:1.

Además, como parte de la presente invención, se ha realizado una investigación para encontrar el tamaño mínimo de cápsula (el composición mínima) que puede contener la mayor cantidad de cristales en forma de aguja de ubidecarenona y que aun así se disuelvan rápidamente in vivo a una temperatura de 37°C in vivo. Se encontró que la relación óptima era aproximadamente 1: 4 entre la ubidecarenona y la matriz de triglicérido.

5 Por consiguiente, en una realización preferida, las composiciones según la invención comprenden 1 parte de Q10 por 2 - 20 partes de grasa o aceite. Aún más preferido, las composiciones según la invención comprenden 1 parte por Q10 por 2 - 6 partes de grasa o aceite. Aún más preferido, las composiciones según la invención comprenden 1 parte de Q10 por 3 - 5 partes de grasa o aceite. Aún más preferido, las composiciones según la invención comprenden 1 parte de Q10 por 4 partes de grasa o aceite.

10 De este modo, la invención se refiere a una composición, en la que la relación de grasa y/o aceite a ubidecarenona en peso está entre 2:1 y 20:1, preferentemente 2:1 y 6:1, preferentemente 4:1.

15 En una realización altamente preferida, la composición según la invención comprende aceite de soja como grasa o aceite de baja temperatura de fusión, y aceite de soja hidrogenado con un punto de fusión por encima de 30°C como grasa (s) o aceite (s) de alta temperatura de fusión. En una realización preferida, la relación entre el aceite de soja y el aceite de soja hidrogenado es de alrededor de 3:1.

Las composiciones según la invención también pueden contener ingredientes adicionales. Un ejemplo apropiado de ingredientes adicionales son los antioxidantes, tales como por ejemplo, vitamina E.

20 Una composición altamente preferida según la invención es una cápsula de gel blando que contiene una composición según la invención, comprendiendo la composición (por 500 mg de composición) aproximadamente 100 mg de ubidecarenona, 297 mg de aceite de soja, 79 mg de aceite de soja hidrogenado con una fusión punto de 32 °C, 20 mg de aceite de soja hidrogenado con un punto de fusión de 41 °C y 4 mg de Vitamina E 1 UI/mg.

Una envoltura típica de cápsula de gel blando está compuesta de gelatina, glicerol, agua y agentes colorantes.

En una realización, las composiciones según la presente invención se desean para uso como un medicamento.

25 En otra realización, la invención se refiere al uso de las composiciones según la presente invención como alimento o suplemento alimenticio.

#### **Procedimiento según la invención**

La invención se refiere además a un método para producir las nuevas formas cristalinas de Q10, comprendiendo el método las etapas de:

30 a. proporcionar una composición de grasa o aceite que comprende uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión por lo menos 10 °C más bajos que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión,

b. solubilizar ubidecarenona en la composición de la etapa a),

35 c. bajar la temperatura de la composición de la etapa b) a una temperatura por debajo de la temperatura a la que la Q10 se solubiliza en la composición, proporcionando por ello una composición sobresaturada, durante un período suficiente para permitir la formación de los cristales de Q10 según la invención, y

d. opcionalmente, enfriar la composición de la etapa c) a temperatura ambiente.

Se encontró que la producción de cristales según la invención se mejoró en los procedimientos de fabricación que incluyen las siguientes etapas detalladas:

40 Etapa a):

La composición de la etapa a) se debe proporcionar preferentemente en forma fluida (por ejemplo, a una temperatura por encima de la temperatura de fusión de (cada uno) de los triglicéridos de alta temperatura de fusión. La composición debe ser fluida si se calienta a 47 °C.

45 Preferentemente, dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión tienen puntos de fusión por debajo de 15 °C y dichos triglicéridos de alta temperatura de fusión tienen puntos de fusión de por lo menos 30 °C.

50 Además, se prefiere que por lo menos uno de los triglicéridos de alta temperatura de fusión usados en la etapa a) se seleccione entre el grupo de grasas y/o aceites que comprenden triglicéridos hidrogenados o parcialmente hidrogenados, así como grasas o aceites de origen natural con una alta concentración de grasa saturada. Las grasas/aceites altamente preferidos son manteca de cacao, aceite de coco, aceite de soja hidrogenado, aceite de semilla de palma, aceite de palma o grasa/aceite de karité.

Preferentemente, los triglicéridos de alta temperatura de fusión usados son triglicéridos de origen natural, tales como manteca de cacao, aceite de coco, aceite de semilla de palma, aceite de palma o grasa de karité.

5 Además, se prefiere que por lo menos uno de los triglicéridos de baja temperatura de fusión usados en la etapa a) se seleccione entre el grupo de grasas y/o aceites que comprenden una baja cantidad de grasa saturada tal como aceite de almendra, aceite de canola, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de linaza, aceite de semilla de uva, aceite de semilla de cáñamo, aceite de oliva, aceite de cacahuete, aceite de colza, aceite de salvado de arroz, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de soja y aceite de girasol.

10 La matriz de aceite/grasa proporcionada en la etapa a) se produce preferentemente calentando el aceite de baja temperatura de fusión a una temperatura por encima del punto de fusión del triglicérido de alta temperatura de fusión que se va a usar.

La grasa/aceite de alta temperatura de fusión se funde a continuación en la grasa/aceite de baja temperatura de fusión proporcionando una matriz homogénea.

Etapa b):

15 La etapa b) se realiza preferentemente calentando la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C. De este modo, se encontró que una temperatura preferida a la que añadir Q10 es de 47 °C. Preferentemente, la adición de ubidecarenona se realiza inmediatamente después del calentamiento de la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C, por lo que la degradación de ubidecarenona se limita lo más posible.

Alternativamente, la adición de ubidecarenona se realiza antes del calentamiento de la composición de la etapa a) a una temperatura de por lo menos 47 °C.

20 La matriz homogénea que comprende la grasa/aceite de alta y baja temperatura de fusión se mantiene después a una temperatura a la que la Q10 se solubilizará completamente en la composición. Sin embargo, se prefiere mantener la temperatura de solubilización lo más baja posible para evitar la degradación de la Q10. Es altamente preferido que toda la Q10 se solubilice, ya que incluso una cantidad mínima de material Q10 restante (no solubilizado) como cristales romboidales reducirá o incluso excluirá la formación de cristales según la invención en la etapa c) del procedimiento. Se encontró preferible solubilizar Q10 a una temperatura por debajo del punto de fusión de Q10. Sin embargo, bajar la temperatura de la composición demasiado rápido y/o demasiado disminuirá la formación de cristales en forma de aguja según la invención (en la etapa c) probablemente debido a la presencia de cristales romboidales no disueltos de Q10. Por otra parte, las altas temperaturas o los tiempos de procesado más largos tienden a dar más degradación de la ubidecarenona en la matriz de grasa o aceite (triglicérido). De este modo, existe un riesgo de que manteniendo las composiciones a temperaturas elevadas durante períodos de tiempo más prolongados aumentará la degradación de Q10.

Los resultados preferibles se obtuvieron enfriando y manteniendo la composición en la etapa b) a una temperatura entre 40 °C y 47 °C, preferentemente 43 °C, durante un período de tiempo entre 30 minutos y 10 horas.

35 Mantener las composiciones en la etapa b) del procedimiento a una temperatura de 43 °C durante 1 hora dio más de 99 % de cristales según la invención (documentado por el uso de análisis de RMN pulsada y por medidas de saturación) en la siguiente etapa c).

Preferentemente, la composición de la etapa b) está saturada con ubidecarenona antes de la realización de la etapa c).

Etapa c):

40 Después de completar la mezcla y solubilización de la Q10 añadida, la temperatura de las composiciones se reduce hasta por debajo de la temperatura de solubilización de Q10 en la composición. Esta temperatura de solubilización exacta de Q10 en la composición puede depender de las características de la mezcla particular de grasa/aceite en la composición.

45 Sin embargo, preferentemente, la temperatura de las composiciones se reduce a por debajo de 40 °C, incluso más preferentemente a por debajo de 37 °C, incluso más preferentemente a por debajo de 35 °C, tal como por debajo de 33 °C, o por debajo de 30 °C, por lo que se proporciona una composición sobresaturada. Por ello, la Q10 cristaliza espontáneamente como cristales en forma de aguja según la invención. Se observó (mediante inspección visual) que pequeños puntos de cristalización (semillas) comienzan a formarse en la fase de enfriamiento inicial de la etapa c). No deseando estar limitados por la teoría, se cree que estas semillas iniciales comprenden un complejo de grasa cristalizada y Q10 donde la ubidecarenona comienza a formar los cristales según la invención que comprenden una pluralidad de partes alargadas, extendiéndose y sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central (es decir, cristales en forma de aguja, o cristales que tienen una "forma de estrella como copos de nieve").

50 Etapa opcional d):

La matriz de aceite de la etapa c) se enfría más preferentemente (a temperatura ambiente) como parte del llenado de la composición en cápsulas de gel blando.

En esta etapa, se cree que el cristal de Q10 está "revestido" con una capa de grasa, que estabiliza el cristal en forma sólida.

Se encontró que los cristales deseados en forma de aguja se forman y/o mantienen independientemente del perfil de enfriamiento en la etapa d). Además, se encontró que los cristales son altamente estables.

5 **Ejemplos**

Ejemplo 1

Una cápsula de gel blando que contiene cristales de ubidecarenona según la invención se produjo de la siguiente manera:

10 Se cargaron 74250 g (74.25 kg) de aceite de soja en un mezclador de baja velocidad con agitación continua con el mezclador de baja velocidad a 10 rpm y a una temperatura predeterminada de 47 °C. A este aceite de soya se le añadieron 24750 g de aceite de soja parcialmente hidrogenado con un punto de fusión de 32 °C, 5000 g de aceite de soja parcialmente hidrogenado con un punto de fusión de 41 °C y 1000 g de vitamina E con agitación continua. Se formó una disolución de aceite.

15 Se añadieron 25000 g de polvo de ubidecarenona a la disolución con agitación continua. Después de la adición de polvo de ubidecarenona, la temperatura se ajustó a 43 °C. La disolución se mantuvo bajo agitación constante a 43 °C durante 60 minutos. La disolución se comprobó visualmente y se observó que era una disolución transparente sin ningún cristal flotante visible.

Si la temperatura es demasiado baja o hay cristales visibles, entonces la agitación y el calentamiento deben continuar.

20 La disolución resultante se enfrió y se introdujo en cápsulas de gel blando que contenía cada una:

|  |        |
|--|--------|
| Ubidecarenona  | 100 mg |
| Aceite de soja   | 297 mg |
| Aceite de soja hidrogenado con punto de fusión de 32°C | 79 mg  |
| Aceite de soja hidrogenado con punto de fusión de 41°C | 20 mg  |
| 25 Vitamina E 1 UI/mg                                  | 4 mg   |
| Total  | 500 mg |

Envoltura de la cápsula:

|                 |               |
|-----------------|---------------|
| 30 Gelatina     | 110-148 mg    |
| Glicerol        | 47 - 64 mg    |
| Color           | 2 mg          |
| Agua purificada | 12 - 32 mg.   |
| Suma total      | aprox. 700 mg |

35 No se encontró que la ubidecarenona de enfriamiento según esta invención desde la temperatura de fabricación hasta la temperatura ambiente a diferentes velocidades tuviera un efecto significativo en la formación de cristales de ubidecarenona. La pregunta principal es hasta qué punto se disuelve la ubidecarenona a 37 °C, antes de la absorción.

40 A partir de ensayos de punto de saturación realizados durante un período de 60 minutos, se demostró que la ubidecarenona en las formulaciones de cápsulas producidas se disolvió completamente a 37 °C.

De manera similar, los análisis de RMN, realizados con un período de calentamiento de 30 minutos, mostraron que los cristales se disolvieron completamente a 37 °C (donde el límite de detección es < 2 %).

Sin embargo, a 20 °C, dos métodos de análisis mostraron un porcentaje cristalino de alrededor del 18 % y alrededor del 17 %, respectivamente.

En el ensayo de división de fases, un ensayo de "re-saturación" mostró que cuando las cápsulas se calentaban a 37 °C después de seis minutos, aún se podían ver pequeñas cantidades de cristales microscópicos, lo que lleva a la conclusión de que seis minutos a 37 °C es un período demasiado corto para una completa re-disolución de los cristales. Después de 10 minutos (siendo el tiempo mínimo para la desintegración de las cápsulas in vivo), ya no era posible la detección visual de los cristales, lo que lleva a la conclusión de que la mayoría de los cristales estaban completamente disueltos en el momento de la desintegración de las cápsulas. Después de un período de calentamiento de 30 minutos a 37 °C, los cristales en forma de aguja de ubidecarenona se disolvieron completamente (el límite de detección es < 2 %).

Se demostró además que la forma de cristal en forma de aguja de ubidecarenona según la invención permanece constante durante todo el almacenamiento del producto y no se ve afectada por cambios en la temperatura durante el almacenamiento.

#### Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia)

Las cápsulas de gel blando de referencia se produjeron mezclando los ingredientes del Ejemplo 1 distintos de ubidecarenona a 47 °C, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente y añadiendo ubidecarenona. De aquí en adelante, la dispersión resultante se cargó en cápsulas de gel blando, que contenía cada una los mismos ingredientes y cantidades de los mismos que las cápsulas de gel blando según el Ejemplo 1.

El contenido de las cápsulas de gel blando producidas según el Ejemplo 1 y las cápsulas de gel blando de referencia producidas según el Ejemplo 2 se analizaron por microscopía. Los resultados confirmaron la presencia de cristales de ubidecarenona (> 99 %) según la invención en las cápsulas de gel blando producidas según el Ejemplo 1. La cápsula de referencia contenía solo ubidecarenona romboidal.

Cuando se calientan las cápsulas de gel blando en un baño de agua a una temperatura de 37 °C, se observó además (por RMN) que los contenidos de las cápsulas según el Ejemplo 1 se volvieron líquidos y que sustancialmente todos los cristales de ubidecarenona en forma de aguja se solubilizaron.

Este no era el caso de las cápsulas de referencia, en las que se observaron los cristales romboidales.

#### Ejemplo 3 (Ejemplo de referencia)

Se cargaron 104000 g de aceite de soja en un mezclador de baja velocidad con agitación continua con el mezclador de baja velocidad a 10 rpm y a una temperatura predeterminada de 47 °C. A este aceite de soja se le añadió 1000 g de vitamina E con agitación continua.

Se añadieron a la mezcla 25000 g de polvo de ubidecarenona con estructura cristalina romboidal de ubidecarenona con agitación continua.

Después de la adición de polvo de ubidecarenona, la temperatura se ajustó a 43 °C. La disolución se mantuvo con agitación constante a 43 °C durante 60 minutos. La disolución se comprobó visualmente y se observó que era una disolución transparente sin cristales visibles. Si la temperatura es demasiado baja o si hay cristales visibles, la agitación y el calentamiento deben continuar. La disolución resultante se introdujo en cápsulas de gel blando como se describe en el Ejemplo 1.

Los contenidos de las cápsulas de gel blando producidas se analizaron por microscopía y se confirmó la ausencia de cristales de ubidecarenona según la presente invención.

#### Ejemplo 4

Se cargaron 99750 g de aceite de oliva virgen (temperatura de fusión de aproximadamente -6 °C) en un mezclador de baja velocidad con agitación continua con el mezclador de baja velocidad a 10 rpm y a una temperatura predeterminada de 47 °C. A este aceite de oliva virgen, se añadieron 5250 g de manteca de cacao (temperatura de fusión de aproximadamente 34 °C) con agitación continua.

Se añadieron a la mezcla 25000 g de polvo de ubidecarenona con estructura de cristal de ubidecarenona romboidal con agitación continua. Después de la adición de polvo de ubidecarenona, la temperatura se ajustó a 43 °C. La disolución se mantuvo con agitación constante a 43 °C durante 60 minutos. La disolución se comprobó visualmente y se observó que era una disolución transparente sin ningún precipitado flotante visible. Si la temperatura es demasiado baja o si hay cristales visibles, la agitación y el calentamiento deben continuar.

La disolución resultante se introdujo en cápsulas de gel blando como se describe en el Ejemplo 1.

Los contenidos de las cápsulas de gel blando producidas según el ejemplo 4 se analizaron por microscopía. Los resultados confirmaron que los contenidos de los cristales de ubidecarenona en el ejemplo 4 eran similares a los cristales de ubidecarenona en las cápsulas de gel blando producidas según el Ejemplo 1.

#### Ejemplo 5

5 Se cargaron 8400 g de aceite de oliva virgen en un mezclador de baja velocidad con agitación continua con un mezclador de baja velocidad a 10 rpm y a una temperatura predeterminada de 70 °C. A este aceite de oliva virgen, se añadieron 420 g de aceite de soja hidrogenado (temperatura de fusión de 65 °C) con agitación continua. El aceite de soja hidrogenado se fundió y se mezcló con el aceite de oliva virgen. Cuando la mezcla se volvió transparente, se mezcló con 96180 g de aceite de oliva virgen a una temperatura de 47 °C.

10 Se añadieron a la mezcla 25000 g de polvo de ubidecarenona con estructura de cristal de ubidecarenona romboidal con agitación continua. Después de la adición de polvo de ubidecarenona, la temperatura se ajustó a 43 °C. La disolución se mantuvo con agitación constante a 43 °C durante 60 minutos. La disolución se comprobó visualmente y se observó que era una disolución transparente sin ningún cristal flotante visible. Si la temperatura es demasiado baja o si hay cristales visibles, la agitación y el calentamiento deben continuar.

La disolución resultante se introdujo en cápsulas de gel blando como se describe en el Ejemplo 1.

Los contenidos de las cápsulas de gel blando producidas según el ejemplo 5 se analizaron por microscopía. Los resultados confirmaron que los contenidos de cristales de ubidecarenona en el Ejemplo 5 eran similares a los cristales de ubidecarenona en las cápsulas de gel blando producidas según el Ejemplo 1.

15 Ejemplo 6

Ensayo in vitro

Los contenidos de tres cápsulas de gel blando de ubidecarenona de 100 mg producidos según el ejemplo 1 se vaciaron en un tubo Eppendorf. Como referencia, los contenidos de tres cápsulas de gel blando de ubidecarenona de 100 mg producidos según el Ejemplo 2 se vaciaron en un tubo Eppendorf y se analizaron en paralelo.

20 Los dos tubos Eppendorf se colocaron en un baño de agua a 31 °C, y la temperatura a continuación se elevó gradualmente a 38 °C. Cuando la temperatura llegó a 37 °C, los tubos Eppendorf se giraron suave y cuidadosamente y se giraron repetidamente a medida que la temperatura se incrementaba hasta 38 °C. A 38 °C, los tubos Eppendorf se retiraron del baño de agua y se centrifugaron a 14000 rpm durante 6 minutos a 37 °C.

25 El tubo Eppendorf que contiene los cristales de ubidecarenona según la invención produjo solo un precipitado insignificante, mientras que el tubo de referencia que contenía cristales romboidales de ubidecarenona dio cantidades considerables de precipitado cristalizado que no está biodisponible.

Ejemplo 7

Ensayo in vivo

30 El propósito de este ejemplo era comparar la estructura cristalina de la ubidecarenona, es decir, los cristales romboidales frente a los cristales en forma de aguja, en cápsulas de gel blando, y la influencia de la misma en la absorción de la ubidecarenona en seres humanos.

Método

35 Se administró 1 cápsula de gel blando producida según el Ejemplo 1 o una cápsula de gel blando de referencia producida según el Ejemplo 2 a cinco varones voluntarios sanos de 23 a 33 años de edad en un ensayo cruzado de una sola dosis, doble ciego, aleatorizado con un intervalo de una semana entre tratamientos. Se obtuvo una muestra de sangre de cada persona por la mañana e inmediatamente después se tomó la única cápsula con agua.

Después del tratamiento, los sujetos ayunaron durante 5 horas, después de lo cual se recogió una segunda muestra de sangre. El procedimiento se repitió con un cruce aleatorio una semana después.

40 Se obtuvo suero de las muestras de sangre y se mantuvo congelado hasta que se analizó para determinar la ubidecarenona. Todas las muestras se analizaron de una vez mediante un método de HPLC estándar.

## Resultados

Cápsulas según el Ejemplo 1:

Concentración de ubidecarenona en suero (mg/l)

| Persona de ensayo | Línea base | Valor a las 5 horas | Diferencia |
|-------------------|------------|---------------------|------------|
| 1                 | 0.92       | 1.02                | 0.10       |
| 2                 | 0.91       | 0.95                | 0.04       |
| 3                 | 0.54       | 0.57                | 0.03       |

## ES 2 712 408 T3

|   |      |      |      |
|---|------|------|------|
| 4 | 0.67 | 0.73 | 0.06 |
| 5 | 0.81 | 0.91 | 0.10 |

Incremento de la mediana (y la media) respecto a la línea base = 0.06 (0.07).

Cápsulas según el Ejemplo 2:

Concentración de ubidecarenona en suero (mg/l)

| Persona de ensayo | Línea base | Valor a las 5 horas | Diferencia |
|-------------------|------------|---------------------|------------|
| 1                 | 1.15       | 1.17                | 0.02       |
| 2                 | 0.82       | 0.86                | 0.04       |
| 3                 | 0.58       | 0.59                | 0.01       |
| 4                 | 0.73       | 0.65                | -0.08      |
| 5                 | 1.28       | 1.18                | -0.10      |

5

Incremento de la mediana (y la media) respecto a la línea base = 0.01 (-0.02).

El incremento de la concentración en suero de ubidecarenona de la dosis única de cápsulas que contienen ubidecarenona según la invención era en 5 casos de 5 mayor o igual que la referencia que contiene cristales romboidales de ubidecarenona:

10

| Ensayo  | romboide | forma de cono | diferencia |
|---------|----------|---------------|------------|
| 1       | 0.02     | 0.10          | 0.08       |
| 2       | 0.04     | 0.04          | 0.00       |
| 3       | 0.01     | 0.03          | 0.02       |
| 4       | -0.08    | 0.06          | 0.14       |
| 5       | -0.10    | 0.10          | 0.20       |
| Mediana | 0.01     | 0.06          | 0.08       |

15

El incremento de la mediana de ubidecarenona en plasma que se encontró en este estudio con 5 personas en ayunas a las 5 horas después de una sola dosis de cápsula de gel blando con 100 mg de ubidecarenona era de 0.06 mg/l para cápsulas de gel blando que contienen ubidecarenona según la invención, y 0.01 mg/l en la formulación romboidal de referencia.

El estudio confirma una diferencia significativa en la absorción de las dos formas ( $p = 0.0625$ ) a favor de la forma cristalina de ubidecarenona según la invención. Por consiguiente, este ejemplo indica una diferencia in vivo en la velocidad de absorción de las formulaciones ubidecarenona entre los cristales en forma de cono y los cristales romboidales.

20

Ejemplo 8 - Ensayo clínico in vivo

Diseño del estudio

25

Se diseñó un ensayo clínico como una presentación de concentración-tiempo de Q10 en plasma por encima de la línea base de dos cápsulas de gel blando de ubidecarenona que son idénticas, excepto por la estructura cristalina de Q10. Se empleó un diseño cruzado, con un período de aclaramiento de un mínimo de 2 semanas entre la ingestión de cada formulación para evitar la influencia del ensayo anterior. La secuencia de presentación de formulaciones es aleatoria.

Métodos y materiales

Las formulaciones ensayadas eran cápsulas de ubidecarenona (Q10) con un contenido específico de 100 mg de ubiquinona cada una, fabricadas por Pharma Nord. Las cápsulas eran idénticas excepto por la estructura cristalina de Q10 en las cápsulas. La formulación 1 (lote POW597) se realizó según el ejemplo 1 de la presente solicitud y la formulación 2 (KOJ786) se realizó según el ejemplo 2 (ejemplo de referencia) de la presente solicitud.

La concentración de ubiquinona en cada preparación se analizó y se encontró que era 99.12 mg por cápsula en el producto según el ejemplo 1 y 99.67 mg por cápsula en el producto según el ejemplo 2.

La forma de los cristales de ubiquinona en las formulaciones se examinó por microscopio después de la producción de las cápsulas y se confirmó la presencia de cristales de ubiquinona en forma de estrella en el producto según el ejemplo 1 (POW597). El producto según el ejemplo 2 (KOJ786) contenía cristales romboidales de ubiquinona.

Sujetos

Se incluyó en el estudio un grupo de estudiantes españoles sanos de 18 a 33 años (10 hombres y 4 mujeres con un intervalo de peso de entre 52 y 86 kg). Se obtuvo el consentimiento informado firmado de cada sujeto antes de la inclusión.

Ensayos

Los sujetos recibieron las cápsulas de gel blando que contienen Q10 en forma de una sola dosis. Las cápsulas en cada etapa se distribuyeron entre los sujetos al azar en forma de una sola dosis. El plan de tratamiento para cada sujeto se eligió al azar, y la composición de las preparaciones dadas a cada sujeto era desconocida por los sujetos y por el investigador, pero se podía rastrear mediante códigos de letras.

Todos los ensayos se llevaron a cabo durante los fines de semana, comenzando a las 8 am del sábado. Los sujetos estuvieron en ayunas durante la noche de viernes a sábado. Se usó un período de aclaramiento de un mínimo de 2 semanas entre las ingestiones de cada formulación para evitar la influencia del ensayo anterior.

Antes del tratamiento, se recogieron muestras de sangre para determinar la línea base. A continuación, se tomaron cápsulas de gel blando que contienen las formulaciones de ubiquinona con un vaso de agua, a continuación se les proporcionó a los sujetos un desayuno que consistía en productos lácteos tales como leche o yogur junto con un sándwich de jamón. Además, los zumos de fruta y el agua están disponibles ad libitum. Después de cuatro horas, se sirvió una comida que consistía en carne, pescado, ensalada y frutas frescas.

La mayoría de los sujetos consumieron agua, pero unos pocos también bebieron vino tinto.

**Resultados:**

Se recogieron muestras de sangre a las 1, 2, 4, 6, 8, 24 y 48 horas y se analizaron para determinar la concentración de ubiquinona (Q10) en plasma (mg por litro).

Tabla 1: Cambio en la concentración de ubidecarenona en plasma (Q10) (media,  $\pm$  SD y  $\pm$  SE) durante las primeras 48 horas después de la ingestión de una sola dosis de una cápsula de gel blando de 100 mg que contiene cristales en forma de estrella de ubidecarenona según el ejemplo 1.

| Tiempo Horas | 1    | 2    | 4    | 6    | 8    | 24   | 48   |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Media        | 0.00 | 0.00 | 0.11 | 0.40 | 0.43 | 0.37 | 0.16 |
| SD           | 0.00 | 0.07 | 0.13 | 0.36 | 0.25 | 0.22 | 0.15 |
| SE           | 0.00 | 0.02 | 0.04 | 0.11 | 0.07 | 0.07 | 0.04 |

Tabla 2: Cambio en la concentración de ubidecarenona (Q10) en plasma (media,  $\pm$  SD y  $\pm$  SE) durante las primeras 48 horas después de la ingestión de una sola dosis de una cápsula de gel blando de 100 mg que contiene cristales romboidales de ubidecarenona según el Ejemplo 2.

| Tiempo Horas | 1    | 2     | 4     | 6    | 8    | 24   | 48   |
|--------------|------|-------|-------|------|------|------|------|
| Media        | 0.00 | -0.01 | -0.01 | 0.10 | 0.07 | 0.14 | 0.16 |
| SD           | 0.00 | 0.08  | 0.11  | 0.18 | 0.15 | 0.14 | 0.13 |
| SE           | 0.00 | 0.02  | 0.03  | 0.05 | 0.04 | 0.04 | 0.03 |

Como se ve en las Tablas 1 y 2, la concentración (media  $\pm$  SE) de ubidecarenona en plasma en mg de Q10/l se incrementa después de la ingestión de ambas cápsulas.

5 Los niveles de línea base naturales eran de 0.34 mg de ubidecarenona (Q10)/l. Como se ve en la Tabla 1, los niveles relativos de Q10-plasma se incrementan 2 horas después de la ingestión de las cápsulas de gel blando y alcanzan el pico principal 8 horas después de la ingestión.

El sujeto tratado con el producto (POW597) que contiene cristales en forma de estrella según la invención alcanza el nivel máximo principal de 0.77 mg de Q10/l, que es 0.43 mg de Q10/l más alto que el nivel inicial. La concentración de ubidecarenona en plasma disminuye a continuación, pero se mantiene después de 24 horas a un nivel de aumento relativo del 86% en comparación con la concentración máxima después de 8 horas.

10 Como se ve en la tabla 2, la concentración (media  $\pm$  SE) de ubidecarenona en plasma en mg de Q10/l después de la ingestión de producto de referencia (KOJ786) se incrementa desde un nivel de línea base de 0.37 mg de Q10/l. Los niveles relativos de Q10 en plasma se incrementan 4 horas después de la ingestión de las cápsulas de gel blando y llegan al pico principal después de 6 horas, donde el nivel es 0.10 mg/l más alto que el nivel inicial, alcanzando de este modo 0.47 mg de Q10/l. La concentración de ubidecarenona en plasma se mantiene durante todo el período de estudio restante.

15 Los resultados muestran que los cristales en forma de estrella según la invención elevan la concentración de ubidecarenona en plasma a concentraciones que son considerablemente más altas de 4 y 24 horas en comparación con el producto que contiene cristales romboidales. Los test t muestran un valor de  $p \leq 0.01$  en todos los puntos de datos en este intervalo (t = 4, 6, 8 y 24 h).

20 La Cmax absoluta y el  $\Delta$ Cmax (incremento) de 6 - 8 horas para el producto con cristales en forma de estrella son, respectivamente, 0.77 y 0.43 mg de Q10/l. La Cmax absoluta y el  $\Delta$ Cmax (incremento) de 6 a 8 horas para el producto con cristales romboidales son, respectivamente, 0.47 y 0.10 mg de Q10/l. De este modo, la Cmax absoluta difiere en un factor de  $0.77:0.47 = 1.6$ . La Cmax relativa difiere en un factor de  $0.43:0.10 = 4.3$ . El test t muestra un valor de p de 0.001 para  $\Delta$ C8 horas.

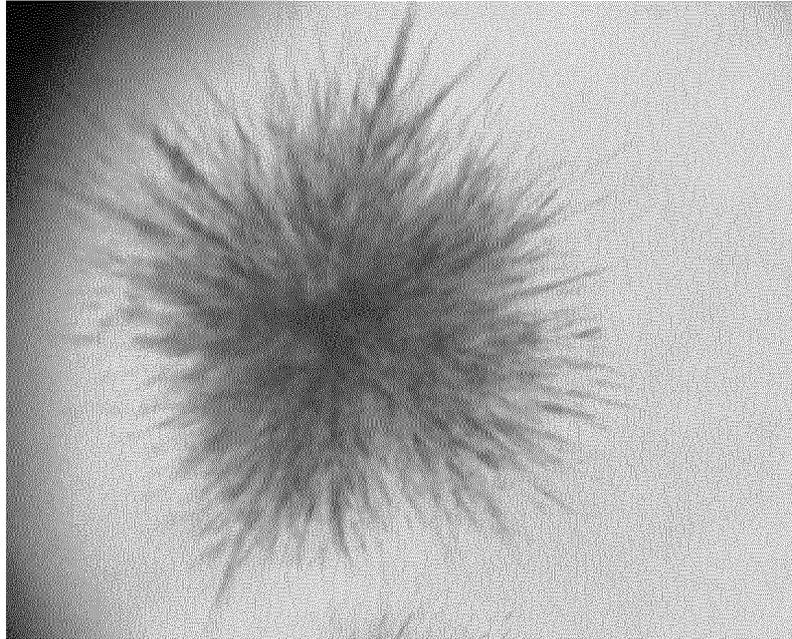
25 El área bajo la curva (AUC) como una expresión para la fracción absorbida de 0 horas a 48 horas se ha calculado que es de 7.1 mg de Q10/l/día para la cápsula que contiene Q10 con estructura cristalina en forma de estrella según la invención, frente a 2.8 mg de Q10/l/día para la cápsula con los cristales romboidales de referencia. La diferencia relativa de absorción, de este modo, difiere con un factor de  $7.1:2.8 = 2.5$ . De este modo, la absorción durante las primeras 48 h difiere en un factor de  $7.1:2.8 = 2.5$ .

30 El AUC0-24h es de 7.8 mg de Q10/l/día para las cápsulas que contienen Q10 con estructura de cristal en forma de estrella según la invención y 1.9 mg de Q10/l/día para los cristales romboidales de referencia. De este modo, la absorción durante las primeras 24 horas difiere en un factor de  $7.8/1.9 = 4.1$ . La diferencia en la absorción entre las dos formulaciones es mayor durante las primeras 24 h. La diferencia in vivo entre la vieja y nueva estructura cristalina en las cápsulas es significativa y favorece la nueva estructura cristalina en forma de estrella.

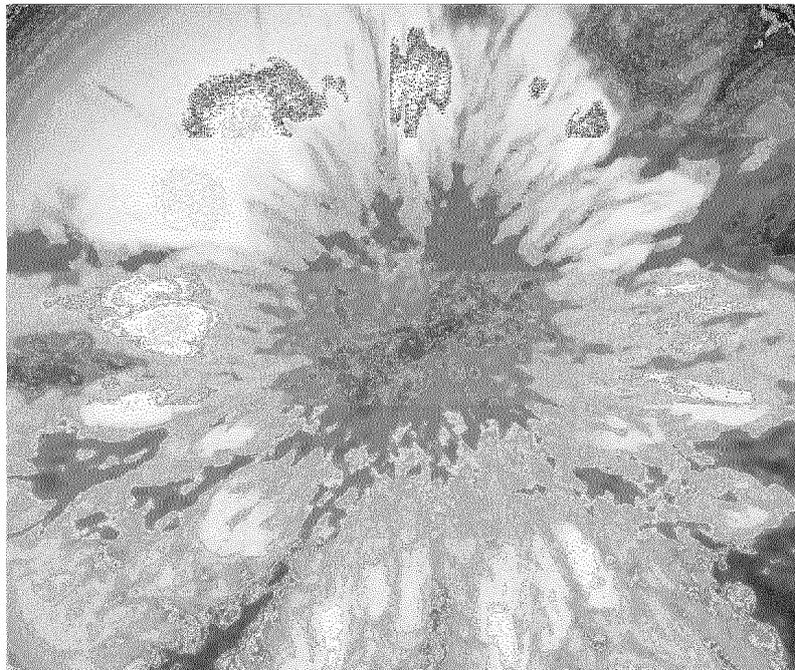
35 Los resultados muestran claramente la ventaja en la absorción humana in vivo de la estructura cristalina en forma de estrella según la invención en comparación con la estructura cristalina romboidal convencional disponible de la materia prima de ubidecarenona.

## REIVINDICACIONES

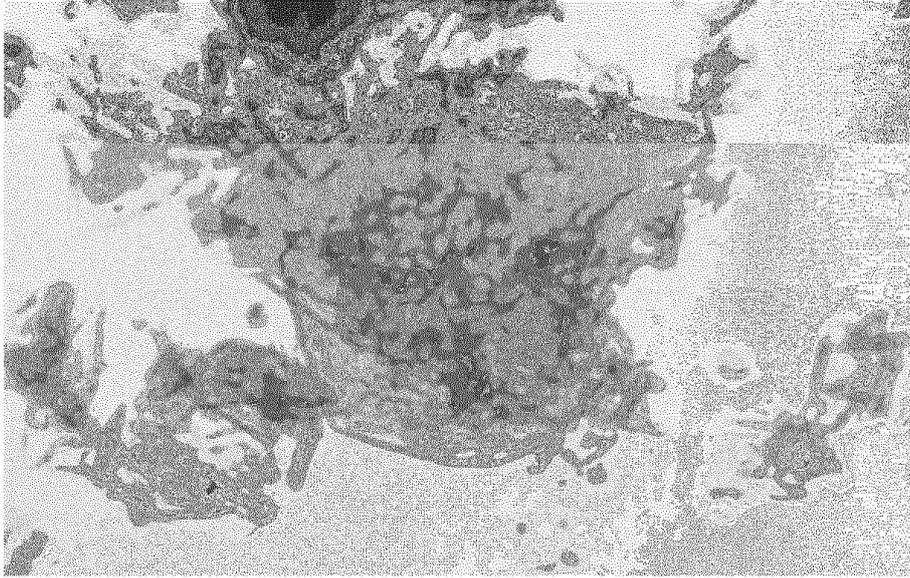
- 5 1. Una forma cristalina de ubidecarenona, en la que la relación del área de la superficie del cristal medida en  $\mu\text{m}^2$  por volumen medido en  $\mu\text{m}^3$  de los cristales de ubidecarenona es mayor de 2 y en la que la forma cristalina de la ubidecarenona comprende una pluralidad de partes alargadas en forma de aguja o en forma de cono que tienen una longitud media de por lo menos  $10\ \mu\text{m}$  y un diámetro en la base de menos de  $1\ \mu\text{m}$ , extendiéndose o sobresaliendo dichas partes alargadas de una región central.
2. Una forma cristalina de ubidecarenona según la reivindicación 1, en la que las partes alargadas en forma de aguja o en forma de cono tienen una longitud media de  $10\text{-}100\ \mu\text{m}$  y un diámetro medio en la base de  $0.01 - 1\ \mu\text{m}$ .
- 10 3. Un método para preparar una forma cristalina de ubidecarenona según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, que comprende las etapas de:
- a) proporcionar una composición de grasa o aceite que comprende uno o más triglicéridos de baja temperatura de fusión y uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión, teniendo dichos triglicéridos de baja temperatura de fusión puntos de fusión que son por lo menos  $10\ ^\circ\text{C}$  más bajos que la temperatura de fusión de los triglicéridos de alta temperatura de fusión,
- 15 b) solubilizar ubidecarenona en la composición de la etapa a),
- c) reducir la temperatura de la composición de la etapa b) a una temperatura por debajo de la temperatura a la que la cantidad de Q10 se solubiliza en la composición, proporcionando por ello una composición sobresaturada, durante un período suficiente para permitir la formación de cristales de Q10 según la reivindicación 1, y
- 20 d) opcionalmente, enfriar la composición de la etapa c) a temperatura ambiente.
4. Un método según la reivindicación 3, en el que la composición de la etapa a) se calienta a una temperatura que está por encima de la temperatura de fusión de uno o más triglicéridos de alta temperatura de fusión.
5. Un método según la reivindicación 3 o 4, en el que la composición de la etapa b) está saturada con ubidecarenona.
- 25 6. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la composición de la etapa a) comprende un triglicérido de baja temperatura de fusión que tiene un punto de fusión por debajo de  $15\ ^\circ\text{C}$  y un triglicérido de alta temperatura de fusión que tiene un punto de fusión de por lo menos  $30\ ^\circ\text{C}$ .
- 30 7. Un método según la reivindicación 6, en el que por lo menos uno de los triglicéridos de alta temperatura de fusión añadidos en la etapa a) se selecciona entre el grupo que comprende triglicéridos hidrogenados o parcialmente hidrogenados, así como aceites o grasas naturales con una alta concentración de grasa saturada tal como manteca de cacao, aceite de coco, aceite de soja hidrogenado, aceite de semilla de palma, aceite de palma o grasa de karité.
- 35 8. Un método según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en el que los triglicéridos de alta temperatura de fusión añadidos en la etapa a) son una combinación de por lo menos dos triglicéridos diferentes seleccionados entre el grupo que comprende triglicéridos hidrogenados o parcialmente hidrogenados así como triglicéridos naturales que contienen una alta cantidad de grasa saturada, tal como manteca de cacao, aceite de coco, aceite de semilla de palma, aceite de palma y grasa de karité, y la etapa b) se realiza a una temperatura igual o por encima de la temperatura de fusión de la ubidecarenona.
9. Una composición que comprende cristales de ubidecarenona según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, y uno o más triglicéridos.
- 40 10. Una composición según la reivindicación 9, en la que la relación de grasa y/o aceite a ubidecarenona en peso está entre 2:1 y 20:1, preferentemente 4:1.
11. Una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10 para uso como medicamento.
12. El uso de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10 como alimento o suplemento alimenticio.
13. Ubidecarenona según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 para uso como medicamento.
- 45 14. El uso de ubidecarenona según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 como alimento o suplemento alimenticio.



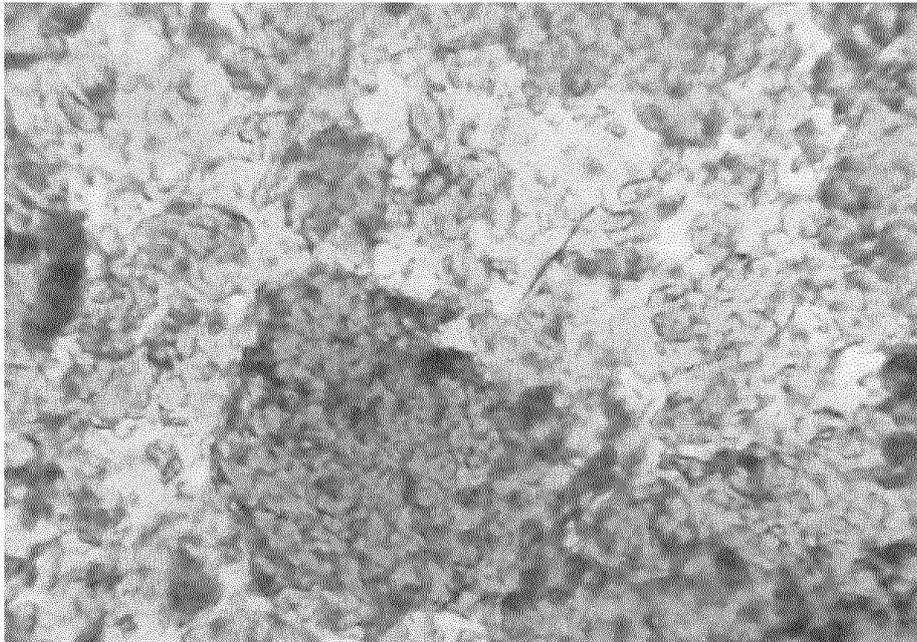
**FIG. 1**



**FIG. 2**

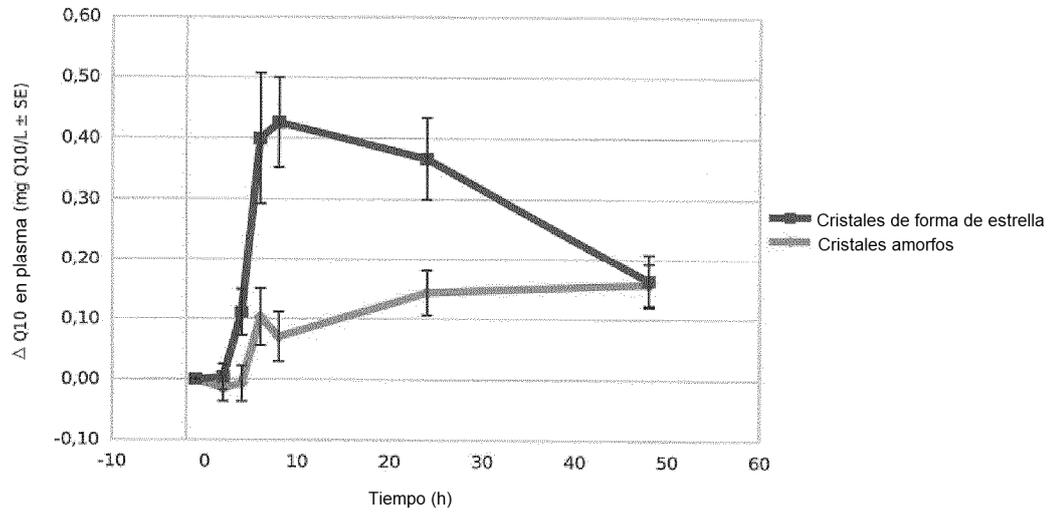


**FIG. 3**



**FIG. 4**

Comparación de absorción de Q10



**FIG. 5**