(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 309 021**

(51) Int. Cl.:
A61K 31/66 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Número de solicitud europea: **01114833 .5**
(96) Fecha de presentación : **28.06.2001**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1201244**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **02.05.2002**

(54) Título: **Fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico para tratar la depresión y aliviar el estrés.**

(30) Prioridad: **23.10.2000 IL 139224**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2008

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2008

(73) Titular/es: **Lipogen Ltd.**
P.O. Box 7687
Haifa 31078, IL

(72) Inventor/es: **Rutenberg, David**

(74) Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

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).

Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

Fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico para tratar la depresión y aliviar el estrés.

Antecedentes de la invención

1. **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a una composición que tiene el efecto de aliviar los síntomas asociados con la depresión y el estrés mental y emocional.

2. **Descripción de la técnica relacionada**

A. Zanotti *et al*. indican que la administración oral de fosfatidilserina, extraída de cerebro bovino, a ratas ancianas con déficit de memoria durante 12 semanas mejoró la actuación de las ratas ancianas (A. Zanotti *et al*., Psychopharmacology Berl., vol. 99, p. 316, 1989).

Monteleoni *et al*. (Eur. J. Clin. Pharmacology, 385-388, 1992) investigaron la administración crónica de fosfatidilserina de corteza cerebral sobre las respuestas neuroendocrinas al estrés físico. El estudio demostró que la administración oral de fosfatidilserina a 800 mg diarios durante 10 días antes de hacer ejercicio redujo las respuestas de ACTH y cortisol frente al ejercicio físico. Se demostró que una dosis de 400 mg diarios no producía efecto sobre la respuesta de cortisol.

Monteleoni *et al*. (Neuroendocrinology, 52, 243-248, 1990) también indicaron la influencia de la fosfatidilserina de corteza cerebral sobre las respuestas neuroendocrinas y neurovegetativas frente al estrés físico. En un estudio doble ciego, cada participante recibió por vía intravenosa fosfatidilserina de corteza cerebral o un placebo, antes de comenzar un ejercicio físico. Se recogieron muestras sanguíneas antes y después del ejercicio para determinar las lecturas de ACTH, cortisol y hormona del crecimiento plasmáticas. El resultado demostró que en el grupo con placebo, el estrés físico indujo un aumento en ACTH, cortisol y hormona del crecimiento, mientras que el grupo con fosfatidilserina mostró una reducción en la producción de ACTH y cortisol.

En una serie de patentes (PCT nº PCT/IL97/00147, sec. 371, fecha del 24 de febrero, 1999, sec. 102(e), fecha del 24 de febrero, 1999, PCT presentada el 6 de mayo, 1997, publicación PCT nº WO97/41874, PCT con fecha de publicación del 23 de noviembre, 1997, número(s) de prioridad: IL19960118180 19960508; WO1997IL00147 19970506), se ha demostrado que el ácido fosfatídico alivia los síntomas del síndrome de abstinencia asociado con una adicción (cigarrillos, alcohol, narcóticos).

El documento DE 4117629 describe el uso de una composición que comprende fosfatidil-L-serina para la fabricación de un medicamento para tratar la depresión.

Sumario de la invención

Un objeto de la presente invención es proporcionar un mejorador que tiene el efecto de aliviar los síntomas asociados con la depresión y el estrés mental y emocional.

Según las investigaciones de los presentes inventores, se ha confirmado que un complejo de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico producido mediante una conversión enzimática utilizando fosfolipasa-D de al menos un material bruto de lecitina seleccionado del grupo que consiste en lecitina de soja, lecitina de colza y lecitina de yema de huevo, tiene los efectos destacados, en el estrés mental y emocional y en la depresión, de disminuir el nivel sanguíneo de cortisol y la captación de serotonina hasta un nivel normal.

Un mejorador de la presente invención contiene fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico o su sal como ingrediente activo, en el que la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico tienen una cadena de ácido graso estructural derivada de al menos un material bruto de lecitina seleccionado del grupo que consiste en lecitina de soja, lecitina de colza y lecitina de yema de huevo.

El mejorador de la presente invención puede administrarse de forma eficaz mediante la administración intravenosa y la administración oral. El mejorador puede mezclarse con otros excipientes, tales como otros fosfolípidos y lisofosfolípidos, azúcares y proteínas, para preparar cápsulas y gránulos de mejor manipulación y caducidad. Debido a la ausencia de cualquier problema de seguridad, el mejorador puede mezclarse con alimentos y bebidas cotidianos, en polvo o en forma líquida, o como una sustancia hidrogenada para su uso para mejorar y evitar los síntomas del estrés mental y emocional y de la depresión.

Los mencionados fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico, como ingredientes eficaces según la presente invención, son ambos producidos mediante una reacción enzimática con fosfolipasa-D, utilizando como sustrato lecitina de soja, lecitina de colza o lecitina de yema de huevo.

A continuación se ilustrará el proceso. Un material bruto de lecitina (es decir, fosfatidilcolina) seleccionado de lecitina de soja, lecitina de colza y lecitina de yema de huevo, se somete al proceso de transfosfatidilación e hidrólisis con fosfolipasa-D, en presencia de L-serina y agua, sustituyendo, con ello, el grupo colina por un grupo serina o un grupo hidroxilo, para producir la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico con una nueva disposición.

Puede emplearse cualquier lecitina de soja, lecitina de colza o lecitina de yema de huevo disponible en el mercado, sin limitación, como material bruto. Como la fosfolipasa-D para su uso en el proceso de la conversión enzimática se puede emplear, por ejemplo, la procedente del repollo y los actinomicetos, si tiene actividad sobre la lecitina, la lecitina hidrogenada o la lisolecitina en presencia de L-serina y agua, para producir fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico.

Se conoce un proceso específico de conversión enzimática y se describe, por ejemplo, en el artículo de Eibl, A. y Kovatchev, S., "Preparation of phospholipids analogs by phospholipase-D" ("Methods in Enzymology", vol. 72, pp. 632-639, 1981), por lo que en la presente no se ofrece una explicación detallada.

Descripción de las realizaciones preferidas

Ejemplo 1-1

Utilizando la lecitina de soja como material bruto, se produjeron fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico mediante el siguiente proceso.

Se colocó lecitina de soja (50 g; nombre del producto: Epikuron 135; Lucas Meyer GmbH, Alemania) y aceite de soja (10 g) en un vial de 300 ml, seguido de la adición de acetato de etilo (50 ml) para su solubilización. Se añadió una disolución (20 ml) de L-serina 0,30 g/ml disuelta en tampón fosfato de sodio 0,1 M, pH 7,0, a la disolución resultante para su mezclado a fondo, y se añadió una disolución de fosfolipasa-D 500 U/ml procedente de repollo a la disolución mezclada para su reacción a 25ºC durante 5 horas agitando con un agitador.

Para inactivar la enzima en la disolución de reacción, el vial que contenía la disolución de reacción se sumergió en agua caliente. Después la disolución de reacción se enfrió en hielo para separar la disolución en dos capas, que se dejaron en reposo durante 30 minutos. Después se retiró y se eliminó la capa superior. La capa inferior remanente se extrajo en cloroformo y entonces se secó a presión reducida.

Ejemplo 1-2

Utilizando lecitina de yema de huevo (nombre del producto: DS-PL95E; fabricado por Doosan Corp. Venture BG Biotech BU, Corea) como sustrato, se produjeron fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico con una nueva disposición mediante el mismo método que en el ejemplo 1-1.

Ejemplo 2-1

Se procesó lecitina de soja (nombre del producto: Epikuron 135; Lucas Meyer GmbH, Alemania) para su hidrogenación. Utilizando la lecitina de soja hidrogenada como sustrato, se produjeron fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico mediante el mismo método que en el ejemplo 1-1.

Ejemplo 2-2

La fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico derivados de lecitina de soja producidos en el ejemplo 1-1 (1 g) se solubilizaron en una disolución mixta de n-hexano (15 g) y etanol (3 g). Se añadió a la disolución paladio al 10% sobre carbono (0,15 g) y la disolución resultante se procesó para su hidrogenación durante aproximadamente 5 horas con agitación en condiciones de temperatura ambiente y presión ambiental.

Ejemplo 3

Como se describirá a continuación, el efecto de mejorar el estado de ánimo y el nivel de depresión mediante la administración oral se confirmó con un ensayo. Un complejo de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico con una proporción de 1:1 (M/M) fue preparado por Lipogen Products (9000) Ltd. mediante el proceso de reacción enzimática a partir de un sustrato de lecitina de soja según el ejemplo 1-1. Cinco voluntarios con síntomas de depresión recibieron 200 mg tres veces diarias durante un periodo de cuatro semanas. Los resultados se presentan en la siguiente tabla 1.

TABLA 1

Sujeto	Edad	Síntomas de depresión antes*	Síntomas de depresión después*
Hombre	50	++	+
Hombre	61	++	0
Mujer	53	+	0
Mujer	35	++	+
Mujer	42	++	+

* 0-normal

+ Ligeramente deprimido

++ Muy deprimido

El sujeto evaluó su escala de depresión.

Como se indica en la tabla 1, se observó una mejora significativa en los cinco participantes independientemente de su edad o género.

Ejemplo 4

Como se describirá a continuación, el efecto de reducir el nivel sanguíneo de cortisol bajo un estrés mental y emocional mediante la administración oral se confirmó mediante un ensayo. Un complejo de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico con una proporción de 1:1 (M/M) fue preparado por Lipogen Products (9000) Ltd. mediante el proceso de reacción enzimática a partir de un sustrato de lecitina de soja según el ejemplo 1-1. Cuatro estudiantes voluntarios en un periodo crítico de exámenes con síntomas de estrés recibió 200 mg tres veces diarias durante un periodo de una semana. Los resultados se presentan en la siguiente tabla 2.

TABLA 2

Sujeto	Edad	Nivel sanguíneo de cortisol antes (nM)	Nivel sanguíneo de cortisol después (nM)
Hombre	24	10	2
Hombre	26	22	8
Mujer	23	18	4
Mujer	35	12	8

Nota: El nivel de cortisol se midió mediante un inmunoensayo enzimático convencional.

Como se indica en la tabla 2, el nivel de cortisol se redujo considerablemente y se aproximó a los niveles normales. Se observó una mejora en los cuatro participantes independientemente de su edad o género.

Ejemplo 5

Como se describirá a continuación, el efecto de un complejo de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico con una proporción de 1:1 (M/M) sobre la captación de serotonina después de la administración oral fue confirmado con un ensayo. Un complejo de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico con una proporción de 1:1 (M/M) fue preparado por Lipogen Products (9000) Ltd. mediante el proceso de reacción enzimática a partir de un sustrato de lecitina de soja según el ejemplo 1-1. Cinco voluntarios con síntomas de depresión recibieron 200 mg tres veces diarias durante un periodo de cuatro semanas. Las muestras de sangre periférica obtenidas de los sujetos presentados en el ejemplo 3 fueron separadas para obtener leucocitos, y se midió la captación de serotonina con serotonina tritiada como se describe en Faraj *et al.* (Int. J. Immunopharm., 16, 561-567, 1994). Los resultados se presentan en la siguiente tabla 3.

TABLA 3

Sujeto	Edad	Cambio en el nivel de captación de serotonina
Hombre	50	-40%
Hombre	61	-20%
Mujer	53	-15%
Mujer	35	-55%
Mujer	42	-58%

Como se indica en la tabla 3, el nivel de captación de serotonina disminuyó significativamente debido al tratamiento con el mejorador en los cinco participantes, independientemente de su edad o género. Los resultados con los leucocitos representan los cambios esperados en el cerebro (Faraj *et al*., Pharmacology, 42, 135-141, 1991). Esta reducción en la captación de serotonina puede estar implicada en diversos aspectos positivos de la mejora del estado de ánimo (Owens y Nemeroff, Clin. Chem., 40, 288-295, 1994).

Como se ha descrito previamente, el antidepresivo, supresor del estrés mental y emocional, y mejorador del estado de ánimo que contiene fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico procedente de soja, colza o yema de huevo como ingrediente activo según la presente invención, puede administrarse de forma continua con facilidad y sin dolor, porque la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico eficaz para mejorar y aliviar los síntomas asociados con la depresión y el estrés mental y emocional puede ingerirse por vía oral desde el mejorador. Además, la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico eficaz para la fabricación de un medicamento para mejorar y aliviar los síntomas asociados con la depresión y el estrés mental y emocional puede producirse con un menor coste y también a gran escala, utilizando una conversión enzimática a través de una enzima de degradación de fosfolípidos (fosfolipasa-D).

Bibliografía

A. **Zanotti** *et al*., "Chronic phosphatidylserine treatment improves spatial memory and passive avoidance in aged rats", *Psychopharmacology*, 99, 316-321, 1989.

Monteleone *et al*., "Blunting by chronic phosphatidylserine administration of the stress-induced activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in healthy men", *Eur. J. Clin. Pharmacology*, 385-288, 1992.

Monteleone *et al*., "Effects of Phosphatidylserine on the Neuroendocrine Response to Physical Stress in Humans", *Neuroendocrinology*, 52, 243-248, 1990.

Eibl, A. y **Kovatchev**, S., "Preparation of phospholipids analogs by phospholipase-D", *Methods in Enzymology*, vol. 72, pp. 632-639, 1981.

Faraj, B.A., **Olkowski**, Z.L., **Jackson**, R.T., Expression of a high-affinity serotonin transporter in human lymphocytes, *Int. J. Immunopharm.*, 16, 561-567, 1994.

Faraj, B.A., **Olkowski**, Z.L., **Jackson**, R.T., **Binding** of [^{3}H]-dopamine to human lymphocytes: possible relationship to neurotransmitter uptake sites, *Pharmacology*, 42, 135-141, 1991.

Owens, M.J., **Nemeroff**, C.B., "Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter", *Clin. Chem.*, 40, 288-295, 1994.

Solicitud PCT nº PCT/IL97/00147, sec. 371, fecha del 24 de febrero, 1999, sec. 102(e), fecha del 24 de febrero, 1999, PCT presentada el 6 de mayo, 1997, publicación PCT nº WO97/41874, PCT con fecha de publicación del 23 de noviembre, 1997, número(s) de prioridad: IL19960118180 19960508; WO1997IL00147 19970506.

REIVINDICACIONES

1. El uso de una composición que comprende fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico o su sal como ingrediente activo, que comprende al menos 20% (p/p) de fosfatidil-L-serina y, de forma típica, dentro del intervalo de aproximadamente 20%-40% de fosfatidil-L-serina, frente al contenido total en fosfolípidos de la composición, y al menos 3% (p/p) de ácido fosfatídico, preferiblemente más de aproximadamente 10% y, de forma típica, dentro del intervalo de aproximadamente 20%-40% de ácido fosfatídico, frente al contenido total en fosfolípidos de la composición, en el que la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico tienen una cadena de ácido graso estructural derivada de al menos un material bruto de lecitina seleccionado del grupo que consiste en lecitina de soja, lecitina de colza y lecitina de yema de huevo, y que se produce mediante una reacción con fosfolipasa-D, para la fabricación de un medicamento para tratar la depresión, suprimir el estrés emocional y mejorar el estado de ánimo.

2. El uso de la reivindicación 1, en el que dicha composición contiene también un excipiente farmacéutico o alimentario.

3. El uso según la reivindicación 1, en el que dicho medicamento es para tratar la depresión, suprimir el estrés emocional y mejorar el estado de ánimo en un sujeto que lo necesite, mediante la reducción del nivel sanguíneo de cortisol y la recaptación de serotonina en el cerebro de dicho sujeto, mediante la administración de una cantidad eficaz de dicha composición.

4. El uso de una composición de fosfatidil-L-serina y ácido fosfatídico o su sal como ingrediente activo, en el que la fosfatidil-L-serina y el ácido fosfatídico tienen una cadena de ácido graso estructural derivada de al menos un material bruto de lecitina seleccionado del grupo que consiste en lecitina de soja, lecitina de colza y lecitina de yema de huevo, y que se produce mediante una reacción enzimática con fosfolipasa-D, y en el que la cadena de ácido graso estructural es una cadena de ácido graso saturado hidrogenado, para la fabricación de un medicamento para tratar la depresión, suprimir el estrés emocional y mejorar el estado de ánimo.

5. El uso de la reivindicación 4, en el que dicha composición contiene también un excipiente farmacéutico o alimentario.

6. El uso de la reivindicación 4, en el que dicho medicamento es para tratar la depresión, suprimir el estrés emocional y mejorar el estado de ánimo en un sujeto que lo necesite, mediante la reducción del nivel sanguíneo de cortisol y la recaptación de serotonina en el cerebro de dicho sujeto, mediante la administración de una cantidad eficaz de dicha composición a dicho sujeto.