

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 965 339**

51 Int. Cl.:

- A61K 31/04** (2006.01)
- A61K 31/202** (2006.01)
- A61K 31/375** (2006.01)
- A61K 31/7068** (2006.01)
- A61K 31/7072** (2006.01)
- A61P 25/28** (2006.01)
- A61P 3/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2017 PCT/NL2017/050140**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.09.2017 WO17155395**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2017 E 17716066 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2023 EP 3426236**

54 Título: **Método para apoyar la función de memoria y/o la función cognitiva**

- 30 Prioridad:  
**08.03.2016 WO PCT/NL2016/050161**
- 45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**12.04.2024**

- 73 Titular/es:  
**N.V. NUTRICIA (100.0%)  
Eerste Stationsstraat 186  
2712 HM Zoetermeer, NL**
- 72 Inventor/es:  
**DE WILDE, MATTHEUS CORNELIS**
- 74 Agente/Representante:  
**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

ES 2 965 339 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

Método para apoyar la función de memoria y/o la función cognitiva

5 [0001] La invención está en el campo de la nutrición médica y más particularmente se refiere a una composición para uso en el apoyo a la memoria y/o la función cognitiva, mejorando y/o conservando la conectividad sináptica y/o mejorando o conservando la organización de red cerebral de un sujeto en necesidad de la misma; la composición es en particular para uso en adultos, preferiblemente personas mayores, para uso en el tratamiento, prevención o reducción del riesgo de atrofia cerebral o contracción cerebral.

## DESCRIPCIÓN DE ANTECEDENTES

15 [0002] El cerebro es un órgano plástico. Tanto pre- como posnatalmente el cerebro sufre cambios rápidos donde se forman las conexiones cerebrales. A lo largo de la vida, el cerebro conserva su plasticidad y en consecuencia se forman nuevas neuritas y sinapsis constantemente. Los hipocampos, donde se almacenan los recuerdos en respuesta a experiencias, son un ejemplo de adaptación y desarrollo continuo del cerebro.

20 [0003] La atrofia cerebral, por otro lado, es una característica del envejecimiento del cerebro, pero también una característica común de muchas enfermedades que afectan el cerebro, y el patrón y la tasa de progresión de la atrofia dependen de la enfermedad involucrada. La atrofia del cerebro o atrofia cerebral se puede describir como la pérdida de neuronas y las conexiones intermedias, lo que provoca una reducción del volumen cerebral. La atrofia puede ser generalizada, lo que significa que todo el cerebro ha encogido, o puede ser focal, afectando sólo a un área limitada del cerebro y resultando en una reducción de las funciones que esa área del cerebro controla. Los síntomas de atrofia cerebral significativa incluyen deterioro cognitivo progresivo y/o de memoria que involucra múltiples funciones cognitivas, también conocido como demencia, convulsiones y afasia, que es la alteración en la comprensión o producción del lenguaje o ambas.

30 [0004] Cierta grado de contracción cerebral ocurre naturalmente con la edad; después de que el cerebro completa su crecimiento y alcanza su masa máxima alrededor de los 25 años, pierde masa gradualmente con cada década de vida, aunque la tasa de pérdida es comparativamente pequeña hasta los 60 años, cuando se pierde aproximadamente entre el 0,5 y el 1 % del volumen cerebral por año. A los 75 años, el cerebro es en promedio un 15 % más pequeño que a los 25. Algunas áreas del cerebro pueden encogerse más que otras, como el hipocampo, que está involucrado en la memoria.

35 [0005] Los estudios sobre la mejora de la nutrición en pacientes con Alzheimer han demostrado mejores resultados neurocognitivos en los grupos de intervención, pero si una mayor ingesta nutricional puede prevenir o ralentizar la atrofia cerebral en sujetos sanos o en sujetos que sufren de atrofia cerebral y que tienen riesgo de deterioro de la función cognitiva y/o de memoria no ha sido estudiado adecuadamente.

40 [0006] Existe la necesidad de investigar más a fondo si la intervención dietética y nutricional ayuda a mejorar y apoyar la función de memoria y/o cognitiva en sujetos en necesidad de la misma.

## SUMARIO DE LA INVENCION

45 [0007] Los inventores han observado que al administrar un producto que comprende cantidades terapéuticamente eficaces de (i) vitamina C y selenio; (ii) ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) y ácido eicosapentaenoico (20:5; EPA); y (iii) monofosfato de uridina [UMP]; y (iv) vitamina B6, vitamina B12 y vitamina B9; y (v) colina, una sal de colina y/o éster de colina; que comprende además vitamina E, a un sujeto humano, la conectividad sináptica funcional en el cerebro de un sujeto se puede mejorar y/o preservar y la organización de la red cerebral se puede preservar o mejorar usando la composición de la invención, en particular se puede apoyar la función de memoria y/o cognitiva en un sujeto que lo necesita, en particular en personas mayores sanas y en un sujeto con atrofia cerebral.

55 [0008] Por tanto, la invención se refiere a una composición para su uso en mejorar terapéuticamente la función de memoria y/o cognitiva en un sujeto humano mayor que tenga al menos 55 años de edad que lo necesite, comprendiendo dicha composición cantidades terapéuticamente eficaces de (i) vitamina C y selenio; y (ii) ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) y ácido eicosapentaenoico (20:5; EPA); y (iii) monofosfato de uridina (UMP); y (iv) vitamina B6, vitamina B12 y vitamina B9; y (v) colina, una sal de colina y/o éster de colina; y donde la composición comprende además vitamina E, donde el sujeto humano de edad avanzada tiene una puntuación de mini examen del estado mental (MMSE) igual o superior a 24, donde la composición se administra por vía enteral al sujeto al menos una vez al día durante un período de al menos 2 años.

[0009] La invención es particularmente útil en personas mayores a partir de 55 años, preferiblemente a partir de 60 años, con atrofia cerebral subclínica.

5 [0010] Los presentes inventores descubrieron sorprendentemente, a través de un estudio clínico, que la administración de una composición que contiene (i) vitamina C y selenio; (ii) ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) y ácido eicosapentaenoico (20:5; EPA); y (iii) monofosfato de uridina [UMP] y (iv) vitamina B6, vitamina B12 y vitamina B9; y (v) colina, una sal de colina y/o éster de colina; en combinación con vitamina E, mostró una mejora significativa en la función de memoria y cognitiva en pacientes con atrofia cerebral y una puntuación en el mini examen del estado mental (MMSE) de 24 o superior (es decir, de 24 a 30). Se determinó una disminución de la pérdida de volumen del hipocampo en sujetos tratados con la composición según la invención. El cumplimiento y la tolerabilidad fueron muy altos y los efectos secundarios relativamente bajos. Los resultados del estudio clínico se resumen en la sección de ejemplos. Además, los experimentos *in vivo* en ratas sanas muestran que la administración de una composición según la invención da como resultado un aumento de la sinaptogénesis.

15 LISTA DE FIGURAS

[0011]

20 La Figura 1A muestra los cambios en el volumen total del hipocampo en cm<sup>3</sup> a lo largo del tiempo de un grupo de sujetos que tienen atrofia cerebral asignados al azar a un tratamiento de control o a una suplementación nutricional con una composición según la presente invención. Se observó una desaceleración significativa de la atrofia del hipocampo (izquierdo y derecho) en el grupo que recibió la composición activa.

25 La Figura 1B muestra los cambios en el volumen cerebral total en cm<sup>3</sup> a lo largo del tiempo de un grupo de sujetos que tienen atrofia cerebral asignados al azar a un tratamiento de control o a una suplementación nutricional con una composición según la presente invención. Se observó una desaceleración de la atrofia cerebral en el grupo que recibió la composición activa.

30 La Figura 2 muestra los cambios en la función cognitiva a lo largo del tiempo de un grupo de sujetos que tienen atrofia cerebral asignados al azar a un tratamiento de control o a una suplementación nutricional con una composición según la presente invención. Se observa una tendencia clínicamente relevante de disminución de la pérdida de la función cognitiva en el grupo que recibió la composición activa según la invención. La Figura 2A muestra los resultados de todos los sujetos asignados al azar, la Figura 2B muestra los resultados de la población por protocolo.

35 La Figura 3 muestra el cambio en la función de memoria de los mismos grupos de sujetos que tienen atrofia cerebral y que están asignados aleatoriamente a un tratamiento de control o a una suplementación nutricional con una composición según la presente invención a lo largo del tiempo. Se observó una desaceleración de la disminución de la función de memoria en el grupo que recibió la composición activa. La Figura 3A muestra los resultados de todos los sujetos asignados al azar, la Figura 3B muestra los resultados de la población por protocolo.

40 La Figura 4 muestra que una combinación de DHA, uridina, vitamina C, vitamina E y selenio mejoró significativamente ( $p < 0,0001$ ) el crecimiento de neuritas (medido como longitud total de neuritas por neurona) de células PC 12 *in vitro*.

45 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

50 [0012] A lo largo de esta solicitud, se puede utilizar la siguiente terminología y abreviaturas:  
La atrofia del cerebro de la atrofia cerebral se caracteriza por una pérdida gradual de volumen cerebral y pérdida de conectividad sináptica. En el proceso de envejecimiento el cerebro se encoge. La extensión de la atrofia cerebral generalmente se determina mediante IRM, donde se determina el volumen del cerebro y regiones cerebrales específicas. La atrofia del hipocampo se refiere a la atrofia en la región temporal medial del cerebro donde se encuentran los hipocampos. La atrofia del hipocampo suele ir acompañada de déficits en el rendimiento de la memoria declarativa, episódica, espacial y contextual, existiendo una relación fiable entre el tamaño del hipocampo y el rendimiento de la función de memoria. La atrofia del hipocampo es una característica clave tanto de la esclerosis del hipocampo (EH) como de la enfermedad de Alzheimer (EA).

60 [0013] Las personas mayores son sujetos humanos preferiblemente mayores de 55 años, preferiblemente mayores de 60 años.

5 [0014] La conectividad sináptica se refiere a las conexiones formadas entre diferentes neuronas que permiten la transmisión de señales entre dichas neuronas. La sinapsis juega un papel en la formación de la memoria. La sinaptogénesis es la formación de nuevas sinapsis y conexiones sinápticas.

10 [0015] Varias enfermedades están relacionadas causalmente con el desarrollo de atrofia cerebral. La atrofia puede ser causada o asociada con la enfermedad de Alzheimer, la parálisis cerebral, la demencia senil, la demencia frontotemporal y la demencia vascular, la enfermedad de Pick, la enfermedad de Huntington y otros trastornos genéticos que causan la acumulación de niveles tóxicos de proteínas en las neuronas, la enfermedad de Parkinson y la desnutrición. En esas formas de realización, la invención se refiere al tratamiento (profiláctico) de atrofia cerebral de sujetos humanos que padecen los trastornos mencionados anteriormente, particularmente la enfermedad de Alzheimer, la parálisis cerebral, la demencia senil, la demencia frontotemporal y la demencia vascular, la enfermedad de Pick, la enfermedad de Huntington y la enfermedad de Parkinson.

15 [0016] La puntuación de atrofia del lóbulo temporal medial (MTA) se refiere a una puntuación visual determinada en imágenes coronales de resonancia magnética T1w a través del hipocampo al nivel de la protuberancia anterior y evalúa 3 características: 1) ancho de la fisura coroidea, 2) ancho del asta temporal del ventrículo lateral y 3) altura del hipocampo, resultando en una puntuación de 0 a 4 dependiendo del grado de ensanchamiento de la fisura coroidea, agrandamiento del asta temporal y atrofia del hipocampo, donde una puntuación  $\geq 2$  se considera anormal en personas menores de 75 años.

20 [0017] El término "función de memoria" describe un conjunto de habilidades que permite a un sujeto recuperar información que ya no está presente. La memoria es parte del funcionamiento cognitivo de un sujeto. En particular, la memoria es la capacidad mental de un organismo para almacenar, retener y recordar información. Los fenómenos de la memoria que pueden examinarse incluyen: (1) conocimiento (qué recordar), (2) comprensión (qué significa); (3) contexto/función (por qué recordar); y (4) estrategia (cómo recordar). La memoria es un proceso psicológico complejo que no es independiente de un único proceso de dominio de la memoria. La memoria está relacionada con varios otros dominios cognitivos, incluida la memoria sensorial, la memoria auditiva y la memoria visual.

25 [0018] La función cognitiva se refiere a acciones mentales o procesos de adquisición de conocimiento y comprensión a través de pensamientos, experiencias y sentidos. La cognición abarca procesos como el conocimiento, la atención, la memoria y la memoria de trabajo, el juicio, la evaluación, el razonamiento, la toma de decisiones, la comprensión y la producción del lenguaje.

30 [0019] El mini examen del estado mental (MMSE) se refiere a un cuestionario de 30 puntos para medir el deterioro cognitivo, como en el diagnóstico y evaluación longitudinal de la enfermedad de Alzheimer. Cualquier puntuación mayor o igual a 24 puntos (sobre 30) indica una cognición normal. Por debajo de esto, las puntuaciones pueden indicar deterioro cognitivo severo ( $\leq 9$  puntos), moderado (10-18 puntos) o leve (19-23 puntos). La puntuación bruta puede corregirse según el nivel educativo y la edad.

35 [0020] La prueba NTB se refiere a una batería de pruebas neuropsicológicas que comprende una combinación de varias pruebas cognitivas validadas, que arrojan medidas del desempeño de un sujeto en el campo cognitivo. Las pruebas NTB se utilizaron para evaluar la función de memoria y la función cognitiva.

40 [0021] En un aspecto de la presente invención, se refiere a una composición con (i)-(v) y vitamina E, que pueda usarse como un producto farmacéutico que comprende uno o más materiales portadores farmacéuticamente aceptables.

45 [0022] En un aspecto preferido de la presente invención, (i)-(v) y vitamina E son parte de una composición que se usa como producto nutricional, por ejemplo como suplemento nutricional, por ejemplo, como aditivo para una dieta normal, como fortificante, para añadir a una dieta normal o como nutrición completa. El producto nutricional comprende preferiblemente al menos un componente seleccionado del grupo de grasas, proteínas y carbohidratos. Preferiblemente comprende entre un 30 y un 60 % de carbohidratos, entre un 30 y un 60 % de grasa y entre un 1 y un 20 % de proteína. Se entiende que un producto nutricional se diferencia de un producto farmacéutico por la presencia de nutrientes que proporcionan nutrición al sujeto al que se administra la composición, en particular la presencia de proteínas, grasas, carbohidratos digeribles y fibras dietéticas. Es preferiblemente una composición que cumple con los requisitos de alimentos para fines médicos especiales, preferiblemente según la directiva CE FSMP 1999/21/EC. Puede contener además ingredientes tales como minerales, vitaminas, ácidos orgánicos y agentes aromatizantes.

5 [0023] En una forma de realización preferida, la composición de la invención es una composición para el uso en el tratamiento o prevención terapéutica de la disfunción cognitiva y/o de la memoria, preferiblemente para tratar o prevenir una disminución o deterioro en la función cognitiva y/o de la memoria de un sujeto, en particular un sujeto con atrofia cerebral, en particular un sujeto con atrofia cerebral con riesgo de enfermedad neurodegenerativa. El tratamiento profiláctico incluye reducir el riesgo de que se produzca una disminución o deterioro de la función cognitiva y/o de la memoria. En una forma de realización de la invención, el sujeto con atrofia cerebral puede tener riesgo de sufrir enfermedad de Alzheimer prodrómica.

10 [0024] El sujeto es una persona mayor de al menos 55 años de edad. El sujeto tiene una puntuación del mini examen del estado mental (MMSE) igual o superior a 24, en particular igual o superior a 26, más particularmente igual o superior a 27.

15 [0025] Cantidades eficaces de la composición según la invención dan como resultado una función de memoria y/o cognitiva mejoradas. En otra forma de realización, la cantidad eficaz de la composición según la invención da como resultado un aumento de la sinaptogénesis en dichos sujetos que lo necesitan, más preferiblemente da como resultado aumentos fisiológicos en el volumen del cerebro y el volumen del hipocampo.

20 [0026] En otra forma de realización preferida más, la composición para uso según la invención es de uso particular para sujetos de avanzada edad sanos. Se utilizan cantidades eficaces de la composición en dichos sujetos.

25 [0027] En una forma de realización, "prevenir" pretende significar que la caída de las funciones cognitivas y/o de memoria es menor con el uso de la composición según la invención en comparación con un grupo de control de sujetos sin tratamiento previo que padecen la misma afección pero a los que no se les administra la composición de la invención.

30 [0028] Según una forma de realización de la invención, la composición se proporciona como un producto nutricional o suplemento nutricional. El producto de la invención es una composición enteral, destinada a la administración oral. Preferiblemente se administra en forma líquida. En una forma de realización, el producto alimenticio es una composición líquida que contiene entre 50 y 250 kcal por 100 ml, más preferiblemente entre 75 y 125 kcal por 100 ml.

[0029] La composición se administra enteralmente al paciente al menos una vez al día durante un periodo de al menos 2 años.

35 [0030] El uso de la invención comprende administrar cantidades terapéuticamente eficaces de la composición que comprende los ingredientes antes mencionados (i)-(v) y vitamina E, y como se describió anteriormente, a un sujeto según la reivindicación 1. El aspecto profiláctico o preventivo incluye reducir el riesgo de aparición de deterioro de la memoria y cognitivo.

40  $\omega$ -3 LC-PUFAs

45 [0031] La composición de la invención comprende cantidades terapéuticamente eficaces de ácido graso poliinsaturado de cadena larga omega-3 (LCPUFA; que tiene una longitud de cadena de 18 y más átomos de carbono), ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) y ácido eicosapentaenoico (20:5); EPA). El EPA se convierte en DPA ( $\omega$ -3), lo que aumenta la conversión posterior de DPA en DHA en el cerebro. Por lo tanto, la presente composición también contiene una cantidad significativa de EPA, para estimular aún más la formación de DHA *in vivo*.

50 [0032] Los LCPUFA (DHA, EPA y/o DPA) se presentan preferiblemente como triglicéridos, diglicéridos, monoglicéridos, ácidos grasos libres o sus sales o ésteres, fosfolípidos, lisofosfolípidos, éteres de glicerol, lipoproteínas, ceramidas, glicolípidos o combinaciones de los mismos. Preferiblemente, la presente composición comprende al menos DHA en forma de triglicéridos. Fuentes adecuadas de LCPUFA  $\omega$ -3 y/o DHA incluyen aceite de atún, (otros) aceites de pescado, ésteres alquílicos ricos en DHA, aceite de algas, yema de huevo o fosfolípidos enriquecidos con LCPUFA  $\omega$ -3, por ejemplo, fosfatidilserina-DHA. Preferiblemente, una composición según la invención comprende aceite de pescado que proporciona el o los LCPUFA omega-3. Otra fuente particularmente adecuada de LCPUFA omega-3 es el aceite de algas.

60 [0033] La dosis diaria total de DHA+EPA+DPA tomadas en conjunto está preferiblemente en el intervalo de 0,25 - 5 g, preferiblemente 0,5 - 5 g, más preferiblemente 0,75 - 2,5 g, por 100 g de la composición, o en términos de dosis diaria, en el intervalo de 0,25 - 5 g, preferiblemente 0,5 - 5 g, más preferiblemente 0,75 - 2,5 g, por día. En una forma de realización preferida, estas cantidades se basan en la suma total de DHA y EPA. El DHA se administra en cantidades terapéuticas, preferiblemente en una cantidad de al menos 0,5 g por 100 g, más preferiblemente 0,5 - 5 g

por 100 g, de la manera más preferible 0,75 - 2 g por 100 g de la composición, o en términos de dosis diaria, en el intervalo de al menos 0,5 g por 100 g, más preferiblemente 0,5 - 5 g por 100 g, de la manera más preferible 0,75 - 2 g por día.

5 [0034] En términos de la composición, la proporción de LCPUFA  $\omega$ -3 (más preferiblemente DHA+EPA+DPA, más preferiblemente DHA+EPA) de los ácidos grasos totales en la composición es preferiblemente de 5 a 95 % en peso, más preferiblemente de 10 a 80 % en peso, de la manera más preferible del 15 al 70 % en peso, incluso más preferiblemente del 20 al 60 % en peso de los ácidos grasos totales. La presente composición comprende preferiblemente de 5 a 95 % en peso de DHA basado en ácidos grasos totales, preferiblemente de 10 a 75 % en peso de DHA basado en ácidos grasos totales, más preferiblemente de 10 a 60 % en peso, incluso más preferiblemente de 10 a 50 % en peso, más preferiblemente de 10 a 40 % en peso, especialmente al menos 20 % en peso de DHA, basado en los ácidos grasos totales de la composición. La presente composición comprende preferiblemente de 5 a 95 % en peso de EPA basado en ácidos grasos totales, preferiblemente de 5 a 75 % en peso de EPA, incluso más preferiblemente de 5 a 50 % en peso, más preferiblemente de 5 a 25 % en peso, de la manera más preferible de 5 a 15 % en peso, basado en ácidos grasos totales de la composición.

20 [0035] En la composición de la invención, la relación entre el peso de DHA y EPA es preferiblemente mayor que 1, más preferiblemente de 2:1 a 10:1, más preferiblemente de 2:1 a 5:1. Las proporciones tienen en cuenta y optimizan el equilibrio entre DHA y sus precursores para garantizar una eficacia óptima manteniendo formulaciones de bajo volumen.

25 [0036] Si está presente o se administra ácido araquidónico (AA), se trata de una cantidad muy baja de AA, expresada en términos de una relación en peso de DHA/AA en la presente composición, de al menos 5, preferiblemente al menos 6. Si se administra AA, preferentemente asciende a menos de 5 g por 100 ml del producto líquido y/o menos de 300 mg por 100 g de peso seco de la composición.

Uridina, citidina y/o equivalentes de las mismas

30 [0037] En una forma de realización, también se pueden aplicar citidina, CMP, citicolina (CDP-colina) además de UMP. Preferiblemente, la composición o combinación a administrar según la presente invención comprende una fuente de uridina seleccionada del grupo que consiste en uridina, desoxiuridina, fosfatos de uridina, uracilo y uridina acilada.

35 [0038] La presente composición comprende UMP, ya que el cuerpo absorbe la UMP de manera más eficiente. Por lo tanto, la inclusión de UMP en la presente composición permite una alta efectividad o eficacia en la dosis más baja y/o la administración de un volumen bajo al sujeto. Preferiblemente, al menos el 50 % en peso de la uridina en la presente composición la proporciona UMP, más preferiblemente al menos el 75 % en peso, de la manera más preferible al menos el 95 % en peso. Las dosis administradas se dan como UMP. La cantidad de fuentes de uracilo se puede calcular tomando el equivalente molar a la cantidad de UMP (peso molecular 324 Dalton).

40 [0039] La presente composición comprende preferiblemente la administración de uridina (la cantidad acumulativa de uridina, desoxiuridina, fosfatos de uridina, nucleobase uracilo y derivados de uridina acilados) en una cantidad de 0,1 a 5 g, preferiblemente de 0,2 a 2,5 g, más preferiblemente de 0,25 a 1 g por 100 g de la composición, o en términos de dosificación diaria, en el intervalo de 0,1 a 5 g, preferiblemente de 0,2 a 2,5 g, más preferiblemente de 0,25 a 1 g por día. En una forma de realización, la presente composición puede comprender la administración de una fuente de uridina en una concentración de 0,1 a 5 g, preferiblemente de 0,2 a 2,5 g, más preferiblemente de 0,25 a 1 g por, calculado como UMP, por 100 kcal de producto. Los términos producto, composición y combinación se utilizan indistintamente.

50 Vitamina C, selenio y vitamina E

[0040] La composición según la invención comprende vitamina C, vitamina E y selenio.

55 [0041] La vitamina C incluye equivalentes funcionales de la misma, y puede estar presente en una cantidad en el intervalo de 20 a 1000 mg, en particular en el intervalo de 30 a 500 mg, más en particular en el intervalo de 50 a 150 mg por 100 g de la composición, o en términos de dosificación diaria, en el intervalo de 20 a 1000 mg, en particular en el intervalo de 30 a 500 mg, más en particular en el intervalo de 50 a 150 mg por día.

60 [0042] El selenio puede estar presente en una cantidad de 0,01 - 0,5 mg, preferiblemente 0,02 - 0,1 mg por 100 g de la composición, o en términos de dosificación diaria, en el intervalo de 0,01 - 0,5 mg, preferiblemente 0,02 - 0,1 mg por día.

[0043] La vitamina E se refiere a compuestos que tienen actividad de vitamina E como se conoce en la técnica, típicamente tocoferol y/o un equivalente del mismo. La vitamina E puede estar presente como tocoferol y equivalentes de tocoferol en una cantidad en el intervalo de 10 a 200 mg, en particular en el intervalo de 10 a 100 mg, más en particular en el intervalo de 20 a 50 mg por 100 g de la composición, o en términos de dosificación diaria, en una cantidad en el intervalo de 10 a 200 mg, en particular en el intervalo de 10 a 100 mg, más en particular en el intervalo de 20 a 50 mg por día. El término "tocoferol y equivalente del mismo", como se usa en esta descripción, comprende tocoferoles (por ejemplo, alfa y gamma), tocotrienoles, derivados farmacéuticos y/o nutricionales aceptables de los mismos y cualquier combinación de los mismos. Los números anteriores se basan en equivalentes de alfa-tocoferol (alfa-TE), como se reconoce en la técnica.

#### Colina

[0044] La composición según la presente invención comprende cantidades terapéuticamente eficaces de colina, una sal de colina y/o éster de colina. En el presente documento, se considerará que el término "colina" abarca todos estos equivalentes. Se prefieren las sales de colina. La sal de colina se selecciona preferiblemente entre cloruro de colina, bitartrato de colina o estearato de colina. El éster de colina se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en fosfatidilcolina y lisofosfatidilcolina. El presente uso comprende preferiblemente la administración de más de 0,1 g de colina por 100 g, preferiblemente de 0,1 a 1 g de colina por 100 g, más preferiblemente de 0,2 a 0,5 g de colina por 100 g de la composición, o en términos de dosis diaria, más de 0,1 g de colina por 100 g, preferiblemente de 0,1 a 1 g de colina por 100 g, más preferiblemente de 0,2 a 0,5 g de colina por día. Los números anteriores se basan en colina, las cantidades de equivalentes o fuentes de colina se pueden calcular teniendo en cuenta el equivalente molar a la colina, basado en la masa molar de 104 g/mol de colina.

#### Vitaminas B

[0045] La composición según la presente invención comprende cantidades terapéuticamente eficaces de vitamina B6 (piridoxina, piridoxal o piridoxamina o hidrocloreto de piridoxina), vitamina B9 (ácido fólico o folato) y vitamina B12 (cobalaminas).

[0046] Dentro de estos términos se incluyen los equivalentes funcionales. La vitamina B6 se administra preferiblemente para proporcionar una cantidad de 100 - 500 mcg, preferiblemente 150 - 300 mcg, basado en 100 g de la composición o por día. La vitamina B9 se administra preferiblemente para proporcionar una cantidad que proporcione de 50 a 1000 µg, en particular en el intervalo de 100 a 1000 µg, más en particular en el intervalo de 200 a 800 µg por 100 g de la composición o por día. La vitamina B9 puede estar presente como folato, que incluye ácido fólico, ácido folínico, formas metiladas, meteniladas y formiladas de folatos, sus sales o ésteres (por ejemplo, éster alquílico C1-6), así como sus derivados con uno o más ácido glutámico, y todo en forma reducida u oxidada. Preferiblemente, la vitamina B9 se proporciona en forma de ácido fólico. La vitamina B12 se administra preferiblemente para proporcionar una cantidad en el intervalo de 0,5 a 20 µg, en particular en el intervalo de 1 a 10 µg por 100 g de la composición o por día. El término "vitamina B12" incorpora todos los equivalentes de cobalbúmina conocidos en la técnica.

[0047] La composición puede comprender además una fracción de carbohidratos digeribles, que incluye preferiblemente una fuente de lactosa y una fuente de polisacárido.

#### **EJEMPLOS**

[0048] Para una comprensión más completa de la presente descripción, ahora se hace referencia a los siguientes ejemplos tomados conjuntamente con los dibujos anexos.

##### Ejemplo 1. ensayo clínico

[0049] Se llevó a cabo un estudio clínico multinacional, aleatorizado, controlado, doble ciego, de grupos paralelos, donde 311 sujetos prodrómicos fueron tratados durante 2 años con una composición según la invención (composición activa, por 125 ml: 300 mg de EPA, 1200 mg de DHA, 106 mg de fosfolípidos, 400 mg de colina, 625 mg de UMP, 40 mg de vitamina E, 80 mg de vitamina C, 60 mcg de selenio, 3 mcg de vitamina B12, 1 mg de vitamina B6, 400 mcg de ácido fólico) o recibió un control isocalórico.

[0050] Los criterios de inclusión para pacientes prodrómicos se definieron de la siguiente manera:

1) Sufrir un trastorno de memoria episódica, definido como -1 DE en 2 de 8 pruebas (que se explican con más detalle a continuación), de las cuales al menos la puntuación de la prueba de memoria es -1 DE.

5 2) Evidencia de la patología subyacente de la enfermedad de Alzheimer

- Atrofia del lóbulo temporal medial  $\geq 1$  determinada en imágenes de resonancia magnética
- Medición del líquido cefalorraquídeo de: relación  $\beta$ -amiloide  $< 1$  o p-tau  $> 60$  o t-tau  $> 350$ , o,
- Una FDG-PET anormal compatible con cambios del tipo de la enfermedad de Alzheimer.

10

3) Edad entre 55-85 años

15 4) MMSE  $\geq 24$  ( $\geq 20$  para sujetos con  $\leq 6$  años de educación formal)

5) Consentimiento informado tanto del sujeto como de un cuidador.

20 [0051] Un total de 311 sujetos fueron asignados al azar al grupo isocalórico (itt n=158) o al grupo de composición activa (itt n=153).

[0052] Las pruebas mencionadas en los criterios de inclusión son las siguientes:

Memoria

25

[0053]

- FCSRT - recuerdo libre retardado\*  $\leq 8$
- FCSRT recuerdo libre - aprendizaje  $\leq 22$
- WMS-R recuerdo retardado de historias (%)  $\leq 75$  %
- WMS-R recuerdo retardado de figuras (%)  $\leq 75$  %

30

Sin memoria

35 [0054]

- TT A  $\geq 60$
- TT B  $\geq 150$
- Prueba de sustitución de símbolos y dígitos  $\leq 35$  (120 s.)
- Fluidez de categorías  $\leq 16$  (60 s.)

40

Abreviaturas:

FCRT: Prueba de recuerdo selectivo libre y facilitado, WMS: Escala de memoria de Wechsler, TT: Test del trazo

45 [0055] La Figura 1A muestra los cambios en el volumen total del hipocampo en  $\text{cm}^3$  con el tiempo. Se observó una desaceleración significativa de la atrofia del hipocampo izquierdo y derecho en el grupo activo (izquierdo:  $p=0,052$ ; derecho:  $p=0,016$ , datos no mostrados). Se observó una desaceleración significativa de la atrofia total del hipocampo (izquierdo y derecho) en el grupo que recibió la composición activa, pendiente MM  $p=0,011$  en el grupo itt que comprende todos los sujetos aleatorizados. (MM \* 24 meses  $p=0,008$ )

50

[0056] La Figura 1B muestra los cambios en el volumen cerebral total en  $\text{cm}^3$  con el tiempo. Se observó una desaceleración de la atrofia cerebral total en el grupo que recibió la composición activa (pendiente MM  $p=0,033$ , MM\* 24 meses  $p=0,416$  y ANCOVA 24 meses  $p=0,420$ ) para el grupo itt que comprende todos los sujetos aleatorizados.

55 [0057] La Figura 2 muestra los cambios en la función cognitiva a lo largo del tiempo. Para evaluar la función cognitiva, se calcularon las puntuaciones Z en función de al menos 4 de 5 pruebas NTB relevantes para la función cognitiva (CERAD, recuerdo y reconocimiento inmediato y retardado, fluidez de categorías, LDST). El cálculo se realizó para cada uno de los componentes de NTB restando la media basal del ítem (sobre toda la población ITT) y dividiendo por la DE basal del ítem (sobre toda la población ITT). Las puntuaciones z resultantes se promediaron para obtener la puntuación z compuesta. Se observa una tendencia clínicamente relevante de disminución de la

60

pérdida de la función cognitiva en el grupo que recibió la composición activa según la invención. La Figura 2A muestra el grupo itt con todos los sujetos aleatorizados, la Figura 2B muestra los sujetos analizados por protocolo.

5 [0058] La Figura 3 muestra el cambio en la función de la memoria de los mismos grupos de sujetos a lo largo del tiempo. Las puntuaciones Z compuestas de memoria se calcularon en función del desempeño de un sujeto en 3 componentes NTB (recuerdo y reconocimiento inmediato y retardado de CERAD). El cálculo se realizó para cada uno de los componentes de NTB restando la media basal del ítem (sobre toda la población ITT) y dividiendo por la DE basal del ítem (sobre toda la población ITT). Las puntuaciones z resultantes se promediaron para obtener  
10 la puntuación z compuesta. La puntuación Z del dominio de memoria solo se calculó si los 3 componentes NTB estaban disponibles. Se observó una desaceleración de la disminución de la función de la memoria en el grupo que recibió la composición activa. La adherencia al tratamiento durante el período de estudio fue > 90 % para ambos grupos y el protocolo del estudio fue generalmente bien tolerado sin que se informaran efectos adversos graves en ninguno de los grupos de tratamiento. La Figura 3A muestra el grupo itt con todos los sujetos asignados al azar, la Figura 3B muestra los sujetos analizados por protocolo.

[0059] En general, se observó un claro beneficio para el grupo de sujetos que fueron asignados aleatoriamente al grupo que recibió la composición activa según la invención, con un desarrollo más lento de la atrofia del hipocampo y cerebral total y una disminución más lenta de la función de memoria y cognitiva.

20 Ejemplo 2. Efecto de la exposición de ratas sanas a la composición de la invención en sinapsis.

[0060] El valor adicional de vitamina C, vitamina E y selenio según la invención se evaluó en ratas sanas suplementadas con uridina (como uridina-5'-monofosfato) y aceite de pescado (FO), que contiene DHA y EPA.

25 [0061] Las ratas fueron asignadas al azar a cuatro grupos de tratamiento y se alimentaron con 1 de las 4 dietas de intervención durante 6 semanas (véase la tabla 1). Al finalizar el tratamiento dietético, se sacrificaron las ratas y se analizaron muestras de cerebro para determinar los niveles de fosfolípidos, proteínas sinápticas y dos enzimas que participan en la síntesis de fosfolípidos, es decir, colina-fosfato citidililtransferasa (PCYT1A) y colina/etanolamina fosfotransferasa (CEPT1).  
30

**Tabla 1:** Dietas que comprenden diferentes cantidades de antioxidantes, aceite de pescado y UMP.

| Nutriente         | Dieta (gramos/100 gramos de dieta) |                           |   |                                    |
|-------------------|------------------------------------|---------------------------|---|------------------------------------|
|                   | Dieta 1 antioxidante bajo          | Dieta 2 antioxidante alto | Dieta 3 antioxidante bajo y aceite de pescado+UMP | Dieta 4 antioxidante alto y FO+UMP |
| Vitamina C        | 0                                  | 0,160                     | 0   | 0,160                              |
| Vitamina E        | 0,000385                           | 0,160                     | 0,000385  | 0,160                              |
| Selenio           | 0,000007                           | 0,00012                   | 0,000007  | 0,00012                            |
| Aceite de pescado | -                                  | -                         | 3,2   | 3,2                                |
| UMP               | -                                  | -                         | 1,0   | 1,0                                |

35 [0062] Los niveles de fosfolípidos totales e individuales (excepto fosfatidilinositol), los niveles de las proteínas pre y postsinápticas Sinapsina-1 y PSD-95, así como los niveles de las enzimas PCYT1A y CEPT1, aumentaron significativamente con la suplementación combinada de aceite de pescado más uridina y antioxidantes, y los niveles no mejoraron con la suplementación de aceite de pescado más uridina sin antioxidantes. Véase la tabla 2 para los resultados.

**Tabla 2.** Efectos de una intervención nutricional específica con antioxidantes, aceite de pescado y UMP en ratas sobre los niveles cerebrales de fosfolípidos, proteínas sinápticas, y enzimas implicadas en la síntesis fosfolípidos. Los valores son medios ± SEM. \* P<0,05 vs. AOX bajo, ANOVA unidireccional post hoc comparación.

| Niveles cerebrales                      | Intervención nutricional |                   |   |  |
|---|--------------------------|-------------------|---|--|
|   | antioxidante bajo        | antioxidante alto | antioxidante bajo & aceite de pescado+UMP | antioxidante alto & aceite de pescado +UMP |
| Fosfolípidos Totales (nmol/mg proteína) | 365,9±15,7               | 363,4±18,1        | 392,5±21,5                                | 457,7±17,8*                                |
| PC (nmol/mg proteína)                   | 136,6±3                  | 135,9±3,1         | 148,6±4,04                                | 166,9±4,7*                                 |

|  |          |           |           |            |
|--|----------|-----------|-----------|------------|
| PE (nmol/mg proteína)  | 93,9±3,7 | 93,9±4,5  | 102,1±5,2 | 120,8±4,8* |
| PS (nmol/mg proteína)  | 30,5±1,4 | 30,5±1,4  | 33±2      | 39,2±1,7*  |
| SM (nmol/mg proteína)  | 19,7±0,7 | 19,6±1    | 20,3±1,2  | 24±0,8*    |
| PI (nmol/mg proteína)  | 17,7±1,8 | 17,2±1,7  | 17,9±1,4  | 21,3±1,5   |
| PSD-95 (% de valores de AOX bajo)                            | 100±1,8  | 107,3±3,8 | 115,9±5,2 | 132,9±5,9* |
| Sinapsina-1 (% de valores de AOX bajo)                       | 100±1,8  | 106,6±3,1 | 113,1±6,3 | 136,6±6,1* |
| proteína de control de b-tubulina (% de valores de AOX bajo) | 100±2,7  | 95,9±3,7  | 95,1±3,4  | 108,4±5,6  |
| PCYT1A Cerebral (ng/ml)                                      | 9,5±0,1  | 9,9±1     | 9,9±0,1   | 12,4±0,2*  |
| CEPT1 Cerebral (ng/ml)                                       | 11,4±0,2 | 12,04±0,2 | 12,06±0,1 | 14,01±0,2* |

[0063] Los resultados muestran que los antioxidantes, vitamina C, vitamina E y selenio, en una dieta que contiene precursores de fosfolípidos ejercen un efecto sinérgico para los efectos de los precursores en los niveles en aumento tanto de fosfolípidos de membrana como de proteínas sinápticas, los indicadores indirectos de la sinaptogénesis de formación de neuritas y la conectividad sináptica. Además, los niveles de las enzimas implicadas en la síntesis de fosfolípidos también aumentaron cuando se suplementó la combinación y no al suplementar FO más uridina o AOX solo.

#### Ejemplo 3: Estudio *in vitro* del efecto de una composición según la invención en el crecimiento neuronal

[0064] Se cultivaron células de feocromocitoma PC12 en DMEM (Gibco), suplementado con un 10 % de suero bovino fetal (FBS), penicilina (100 unidades/ml) y estreptomycin (100 µg/ml) (Gibco), bajo una atmósfera humidificada con un 95 % de aire y 5 % de CO<sub>2</sub> a 37 °C. Las células se sembraron en placas de 96 pocillos a una densidad de 2000 células/pocillo y, después de 24 horas, se suplementaron con un medio que contenía 20 ng/ml de factor de crecimiento nervioso (NGF). Las células se expusieron a una composición según la invención o se dejaron sin suplementar (control). La composición con la que se suplementaron las células se indica en la tabla 3. La suplementación de las células se realizó por triplicado. Estas condiciones se compararon con células no suplementadas. Después de la suplementación durante 2 días con estas combinaciones, las células se tiñeron usando tinción Calceína-AM (2 ng/microlitro) y los núcleos se contratiñeron usando tinción Hoechst (0,6 microgramos/ml), en 100 µl de medio de cultivo por pocillo y se incubaron durante 20-30 min a 37 °C. Posteriormente, se tomaron imágenes FITC y DAPI (25 imágenes por pocillo) usando un sistema de imágenes de alto contenido Arrayscan XTI. El crecimiento de neuritas se cuantificó usando el algoritmo Neuronal Profiling Bioapplication. Finalmente, todos los datos se analizaron estadísticamente usando Graphpad Prism. Los datos actuales muestran que una combinación de DHA, uridina, vitamina C, vitamina E y selenio mejoró significativamente ( $p < 0,0001$ ) el crecimiento de neuritas (medido como longitud total de neuritas por neurona) de las células PC12 *in vitro* (Figura 4).

[0065] El funcionamiento del cerebro, que varía desde la percepción y el control motor hasta la cognición, depende en gran medida de la conectividad estructural entre las neuronas que respalda la actividad coordinada en las redes neuronales. A nivel celular, la forma de una neurona (por ejemplo, la longitud de las neuritas y el número de neuritas y ramas) es fundamental para su función, ya que determina la cantidad de entradas que la neurona puede recibir y cómo se procesan esas entradas. Los resultados obtenidos con células PC12 expuestas a la composición según la invención son indicativos de la formación de nuevas neuritas en respuesta a la composición según la invención.

**Tabla 3.** Las células PC12 fueron suplementadas con una composición que comprendía el nutriente DHA, uridina, vitamina C, vitamina E y selenio durante 2 días.

| Nutriente  | Concentración ( $\mu\text{M}$ ) |
|------------|---------------------------------|
| DHA        | 15                              |
| Uridina    | 75                              |
| Vitamina C | 225                             |
| Vitamina E | 60                              |
| Selenio    | 0,24                            |

Ejemplo 4. Una composición líquida según la invención, que comprende por porción de 125 ml:

5 [0066]

- 4,9 g de grasa
- 300 mg EPA
- 1200 mg DHA
- 106 mg de fosfolípidos
- 400 mg de colina
- 625 mg UMP
- 40 mg de vitamina E (alfa-TE)
- 80 mg de vitamina C
- 60  $\mu\text{g}$  selenio
- 3  $\mu\text{g}$  vitamina B12
- 1 mg de vitamina B6
- 400  $\mu\text{g}$  ácido fólico

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Composición para uso en mejorar terapéuticamente la función de memoria y/o cognitiva en un sujeto humano de edad avanzada de al menos 55 años de edad en necesidad de la misma, comprendiendo dicha composición cantidades terapéuticamente eficaces de
- (i) vitamina C y selenio; y
  - 10 (ii) ácido docosahexaenoico (22:6; DHA) y ácido eicosapentaenoico (20:5; EPA); y
  - (iii) monofosfato de uridina (UMP); y
  - (iv) vitamina B6, vitamina B12 y vitamina B9; y
  - (v) colina, una sal de colina y/o éster de colina; y
- 15 donde la composición comprende además vitamina E, donde el sujeto humano de edad avanzada tiene una puntuación de mini examen del estado mental (MMSE) igual o superior a 24, donde la composición se administra por vía enteral al sujeto al menos una vez al día durante un período de al menos 2 años.
- 20 2. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde dicho sujeto tiene un mayor riesgo de deterioro de la función cognitiva y/o de memoria.
- 25 3. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde dicho sujeto padece de atrofia cerebral debido al encogimiento del cerebro durante el envejecimiento y/o está en riesgo de enfermedad neurodegenerativa.
- 30 4. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde DHA se administra en una cantidad de al menos 0,5 g por 100 g, preferiblemente 0,5 - 5 g por 100 g del producto o por día.
5. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde uridina, como la cantidad acumulativa de uridina, desoxiuridina, fosfatos de uridina, nucleobase uracilo y derivados de uridina acilada, se administra en una cantidad de 0,1-5 g, preferiblemente 0,2-2.5 g, más preferiblemente 0,25-1 g por 100 g del producto o por día.
- 35 6. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el selenio se administra en una cantidad de 0,01 - 0,5 mg, preferiblemente 0,02 - 0,1 mg por 100 g de la composición o por día.
7. Composición para uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la vitamina C se administra en una cantidad de 20 a 1000 mg, en particular en el intervalo de 30 a 500 mg, más en particular en el intervalo de 50 a 150 mg por 100 g de la composición o por día.

Fig. 1A

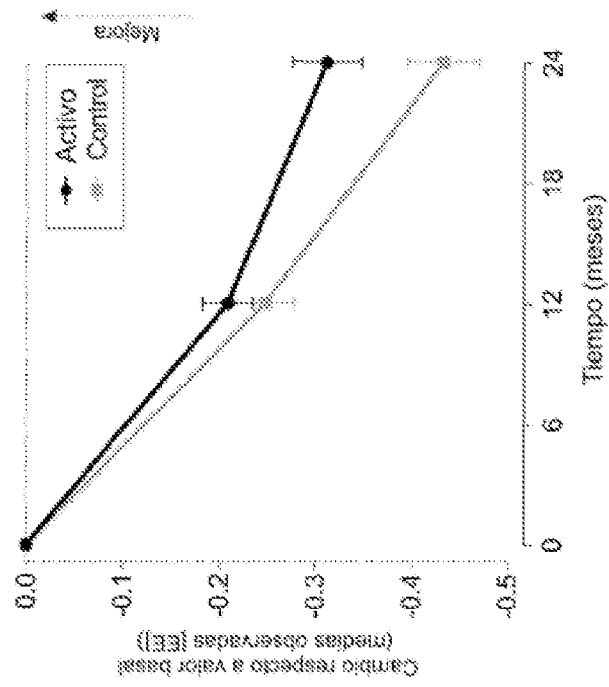


Fig. 1B

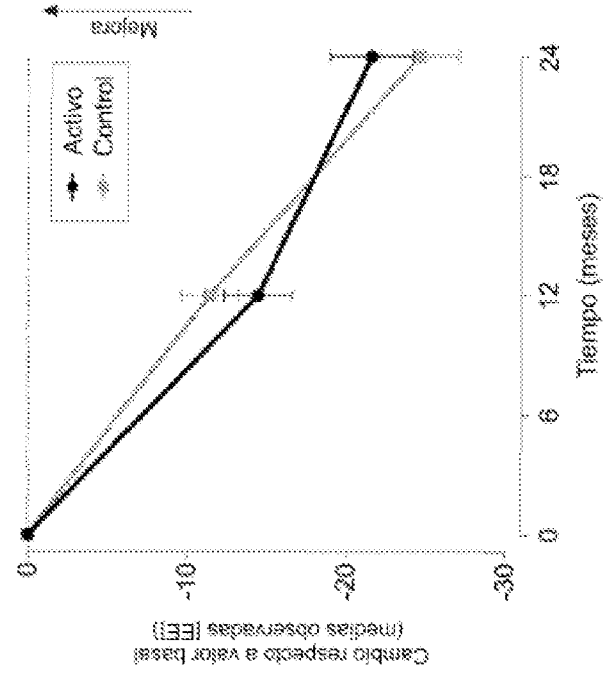


Fig. 2B

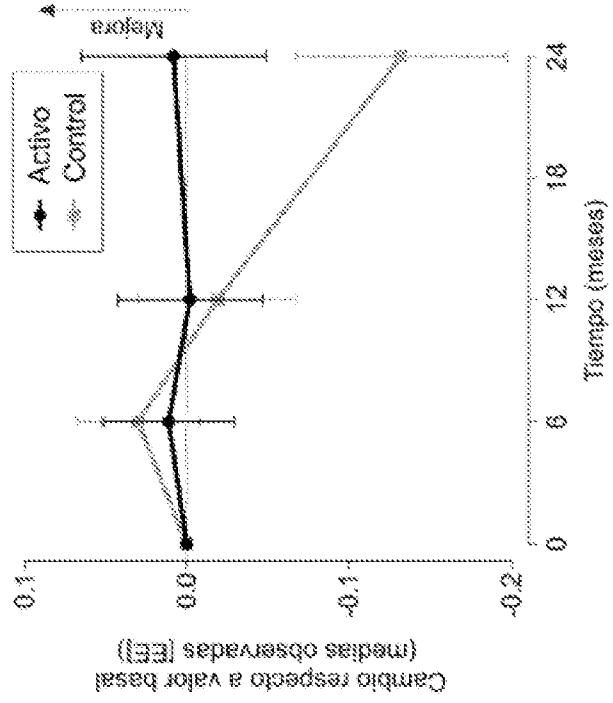


Fig. 2A

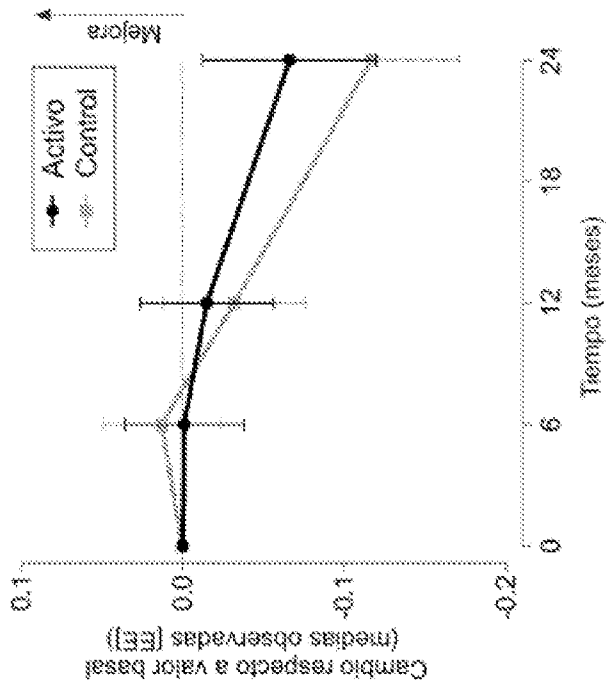


Fig. 3A

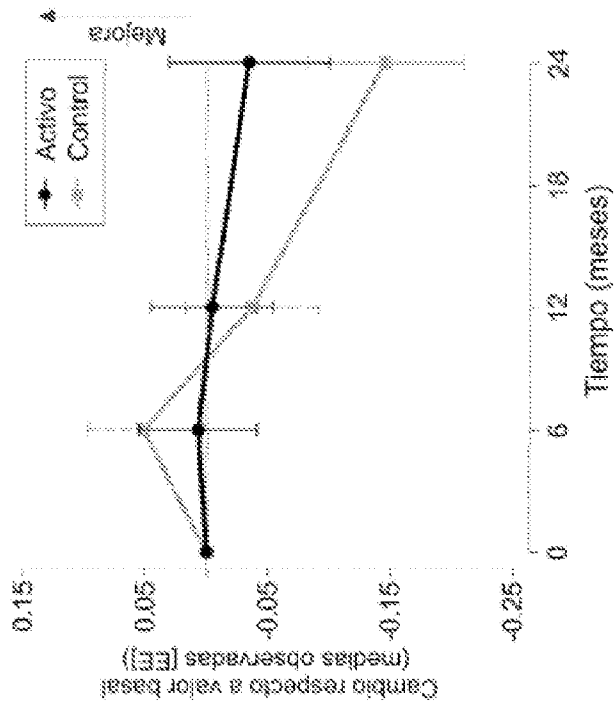


Fig. 3B

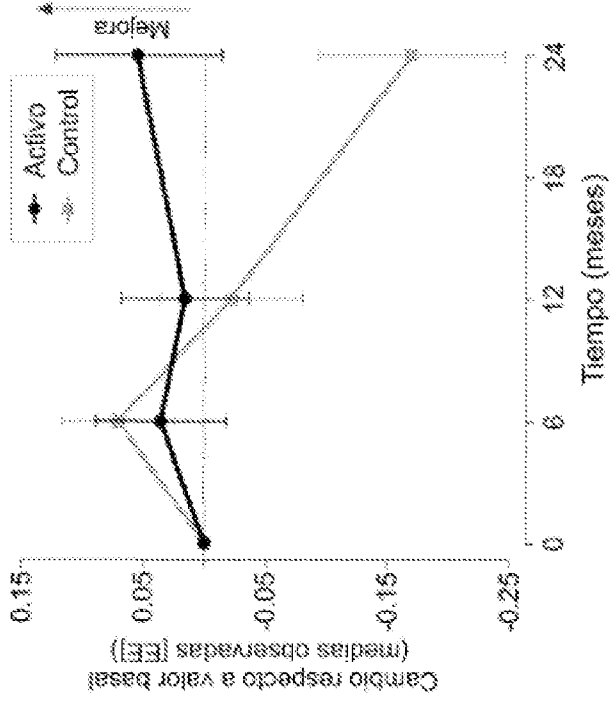


Fig. 4

