

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 859 609**

51 Int. Cl.:

A61K 31/724 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.12.2014 PCT/FR2014/053309**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15087016**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.12.2014 E 14827505 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2021 EP 3082831**

54 Título: **Composiciones a base de metil-ciclodextrinas para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades mediante el aumento del nivel de colesterol-HDL**

30 Prioridad:

13.12.2013 FR 1362633

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

04.10.2021

73 Titular/es:

**ROQUETTE FRÈRES (100.0%)
1 rue de la Haute Loge
62136 Lestrem, FR**

72 Inventor/es:

**SALOME, MARC;
WILS, DANIEL;
PARISSAUX, XAVIER;
MACH, FRANÇOIS y
MONTECUCCO, FABRIZIO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 859 609 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones a base de metil-ciclodextrinas para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades mediante el aumento del nivel de colesterol-HDL

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que permiten aumentar el nivel de colesterol-HDL en un individuo. La presente invención se refiere más específicamente al uso de una composición farmacéutica en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL, o en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o de las complicaciones relacionadas con un ateroma, o enfermedades del sistema nervioso central.

Técnica anterior de la invención

10 El colesterol es un lípido de la familia de los esteroides que desempeña un papel central en numerosos procesos bioquímicos.

15 Es un componente principal de las membranas de las células animales que contribuye a su estabilidad y al mantenimiento de su estructura al intercalarse entre los fosfolípidos. De hecho, el colesterol rigidifica la membrana impidiendo su gelificación ya que evita la cristalización de los ácidos grasos y disminuye también la permeabilidad membranaria a las moléculas hidrosolubles. Intercalándose en las membranas, el colesterol permite también la formación de balsas lipídicas que son unas zonas esenciales para el anclaje de proteínas funcionales.

20 Por otro lado, el colesterol se encuentra también en las neuronas, en las que permite la síntesis de neurotransmisores por exocitosis y, por lo tanto, la propagación del mensaje nervioso. Está directamente implicado en la formación de péptidos beta-amiloideos y, por lo tanto, en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. También se ha demostrado una asociación entre la aterosclerosis y la enfermedad de Alzheimer (Mikael Simons *et al.*, «Cholesterol depletion inhibits the generation of b-amyloid in hippocampal neurons», Proc. Natl. Acad. Sci. USA; Vol. 95, p. 6460-6464, mayo de 1998, Neurobiology).

25 El metabolismo del colesterol es también precursor de numerosas moléculas tales como, por ejemplo, las hormonas esteroideas (cortisol, cortisona, y aldosterona), las hormonas esteroideas sexuales (progesterona, estrógenos, y testosterona), la vitamina D3, la hemo A, las proteínas preniladas o farnesiladas, la ubiquinona o coenzima Q10, el dolicol, el factor nuclear NF kappa B, la proteína Tau y las sales biliares.

El colesterol se transporta en la sangre por unos sistemas de transporte con papeles muy diferentes, a saber las lipoproteínas LDL (lipoproteínas de baja densidad) y las lipoproteínas HDL (lipoproteínas de alta densidad).

30 El HDL-colesterol se considera como protector frente a enfermedades cardiovasculares y se designa frecuentemente como "colesterol bueno".

35 Las LDL que transportan el colesterol penetran en la pared arterial y después se captan por los monocitos y macrófagos que residen en esta pared arterial, así como por las células del músculo liso. Esto da como resultado una carga excesiva de lípidos en los macrófagos y células del músculo liso, que se transforman después en células espumosas causantes de los procesos de arterosclerosis y que corresponden a la primera fase de la formación de la placa de ateroma. Es cuestión entonces de "colesterol malo".

40 El ateroma se define por la Organización Mundial de la Salud como una "combinación de modificaciones de la íntima de las arterias de calibre grande y medio que consisten en una acumulación focal de lípidos, glúcidos complejos, de sangre y de depósitos cálcicos, con modificaciones en la media". El ateroma es el origen de la mayoría de las enfermedades cardiovasculares y es la principal causa de morbilidad y mortalidad en los países industrializados. El ateroma comienza con la formación de una "estría lipídica", un simple depósito de grasa, lineal y sin consecuencia para el flujo, situado entre el endotelio y la media de la arteria. Con el tiempo, esta estría puede aumentar, cargarse de lípidos, de fibrógeno, de plaquetas y otras células sanguíneas, y de calcio para constituir la "placa de ateroma". Esta se hace más o menos grande y puede disminuir suficientemente el calibre de la arteria para reducir su caudal.

45 Existen dos tipos de complicaciones: la primera, de evolución larga, se debe a su crecimiento lento, dificultando cada vez más el paso de la sangre hasta impedirlo totalmente por obstrucción. La segunda, rápida y responsable de las complicaciones agudas, consiste en la lesión o la rotura del endotelio: la brecha formada se obstruye entonces por una agregación de plaquetas sanguíneas y la formación de un coágulo sanguíneo que puede obstruir rápida y totalmente el vaso. Este coágulo puede también desprenderse y obstruir también corriente abajo. La placa puede también desprenderse parcialmente y obstruir también la arteria, o, más raramente, liberar su contenido y causar una embolia de colesterol. Finalmente, la dilatación de la pared arterial inducida por el aumento de volumen de la placa puede llevar a la formación de un aneurisma, con riesgo de rotura.

55 La clase farmacéutica más empleada para prevenir el ateroma es las estatinas, que tienen como objetivo reducir el nivel de colesterol-LDL y de lípidos circulantes, como complemento a una dieta adecuada. Sin embargo, la ventaja y la utilidad de las estatinas han sido, desde hace algún tiempo, muy criticadas por algunos investigadores y clínicos que afirman que las estatinas, después del análisis de ensayos estadísticos controvertidos por ser contradictorios, no

aportan a los pacientes el beneficio terapéutico esperado. A este cuestionamiento se añaden efectos secundarios dañinos, e incluso a veces dramáticos, que se han identificado y han llevado en algunos casos a una retirada del mercado.

Los otros tratamientos con fármacos propuestos en la actualidad son:

- 5
- los antiagregantes plaquetarios, como la aspirina o el clopidogrel, que se supone que disminuyen la formación de coágulos a partir de la placa de ateroma;
 - los medicamentos antihipertensivos tales como los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.

10 Los tratamientos farmacéuticos que existen en la actualidad tienen como objetivo, por lo tanto, únicamente disminuir los riesgos relacionados con el ateroma. Ninguno de los medicamentos que existen en el mercado ataca directamente a la placa de ateroma.

Cuando está en juego el pronóstico vital, el tratamiento es quirúrgico o endovascular. Tiene como objetivo restaurar el lumen arterial, irrigar el territorio privado de oxígeno o suprimir el aneurisma arterial. Entre estas técnicas, se puede citar la angioplastia, la desobstrucción por endarterectomía, el bypass.

15 Finalmente, el principal medio de lucha contra el ateroma y sus complicaciones sigue siendo todavía actualmente de naturaleza comportamental: dejar de fumar, desarrollar actividad física, controlar la tensión arterial, corregir una dislipidemia, equilibrio de la diabetes, dieta.

Así, se debe apreciar que existe claramente y desde hace mucho tiempo una necesidad no satisfecha de tratamiento y/o prevención del ateroma.

20 Sin embargo, se han probado diversos enfoques sin que se haya adoptado ninguna solución nueva. El colesterol-HDL, en particular, comenzó a estudiarse en 1975 cuando unos investigadores demostraron la relación entre niveles de colesterol-HDL elevados y la disminución de la incidencia de las enfermedades cardiovasculares (Rye K.A. 2013. High density lipoprotein structure, function, and metabolism: a new Thematic Series. J. Lipid Res. 54:(8) 2031-2033). Los resultados positivos de estos estudios han alentado el desarrollo de tratamientos que tienen como objetivo aumentar los niveles de colesterol-HDL, entre los cuales se seleccionarán los inhibidores de la enzima CETP, (proteína de transferencia de los ésteres de colesterol) que fueron los primeros agentes desarrollados y evaluados a gran escala, específicamente con este objetivo. Sin embargo, ninguno de estos tratamientos ha permitido reducir la aparición de accidentes cardiovasculares.

30 Busseuil *et al.* (Brit. J. Pharmacol., 2000, 131, 10P) informaron de un estudio del efecto de la metil-β-ciclodextrina (MβCD) sobre el contenido en colesterol y las respuestas vasculares de la arteria coronaria aislada porcina, que muestra que un pretratamiento durante la noche con MβCD puede reducir considerablemente el contenido en colesterol de las arterias coronarias.

Swaroop *et al.* (J. Biomol. Screen., 2012, 17, 1243-1251) han descrito una evaluación de la actividad reductora de colesterol de la MβCD que muestra que la MβCD reduce la acumulación de colesterol lisosomal en los fibroblastos cutáneos derivados de pacientes que padecen la enfermedad de Niemann Pick de tipo C.

35 Finalmente, no existe aún en el mercado ningún medicamento capaz de inducir de forma eficaz a un aumento del nivel de colesterol-HDL en el paciente, especialmente por que los mecanismos implicados están todavía en la actualidad lejos de esclarecerse. En particular, no existe en el mercado ningún medicamento capaz de luchar eficaz y activamente contra las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL. Además, existe una necesidad constante de un medicamento capaz de luchar contra la aterosclerosis, en particular
40 contra la formación de la placa de ateroma.

Resumen de la invención

45 Es mérito de la solicitante haber descubierto que unas composiciones farmacéuticas a base de metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar particular comprendido entre 0,05 y 1,5 permiten inducir un aumento del nivel de colesterol-HDL, en particular del nivel de colesterol-HDL plasmático, y son, por lo tanto, extremadamente interesantes para el tratamiento o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL, especialmente la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, o enfermedades del sistema nervioso central.

50 El objeto de la presente invención es, por lo tanto, proponer una composición farmacéutica que comprenda al menos una metil-ciclodextrina que presente un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9 para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL.

Otro objeto de la presente invención es proponer una composición farmacéutica que comprenda al menos una metil-ciclodextrina que presente un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, para su uso en el tratamiento

y/o la prevención de la aterosclerosis o de complicaciones relacionadas con un ateroma, o enfermedades del sistema nervioso central.

5 Preferiblemente, las composiciones de la invención se utilizan en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o de complicaciones relacionadas con un ateroma. Las complicaciones relacionadas con un ateroma comprenden típicamente la isquemia, por ejemplo la isquemia del miocardio, las enfermedades coronarias, la angina de pecho, el síndrome coronario agudo, el infarto del miocardio, el infarto mesentérico, el accidente cerebrovascular, el aneurisma, o la arteriopatía de las extremidades inferiores y sus consecuencias (consecuencias relacionadas con hipoxia/isquemia, por ejemplo una diabetes resultante de aterosclerosis).

10 En otro modo preferido, las composiciones de la invención utilizadas en el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades del sistema nervioso central se seleccionan entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, y las enfermedades lisosomales que afectan el sistema nervioso central. Preferiblemente, las enfermedades lisosomales que afectan el sistema nervioso central se seleccionan entre la enfermedad de Niemann-Pick, preferiblemente la enfermedad de Niemann-Pick de tipo A, la enfermedad de Niemann-Pick de tipo B, o la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C.

15 La metil-ciclodextrina utilizada en las composiciones farmacéuticas de la invención presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9. Ventajosamente, el grado de sustitución molar está comprendido entre 0,6 y 0,8. En un modo de realización particular, la metil-ciclodextrina es una metil- β -ciclodextrina. En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina está sustituida en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranosas, o por los carbonos C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranosas, o por una combinación de los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6 de las unidades de glucopiranosas.

20 Preferentemente, las composiciones de metil-ciclodextrinas comprenden una o varias metil- β -ciclodextrinas seleccionadas del grupo que consiste en metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranosas, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por los carbonos C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranosas, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6, de las unidades de glucopiranosas, y presentando dichas metil- β -ciclodextrinas un grado de sustitución molar comprendido entre 0,6 y 0,8.

Ventajosamente, las composiciones de metil-ciclodextrinas comprenden al menos un 50, 60, o un 75% de metilos sustituidos en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranosas.

30 Facultativamente, las composiciones que comprenden al menos una metil-ciclodextrina comprenden también una ciclodextrina, en particular β -ciclodextrina, no sustituida y/o una ciclodextrina, en particular β -ciclodextrina, sustituida con unos grupos sulfobutiléter (SBE-) e hidroxipropilo (HP-), preferentemente con un grado de sustitución molar comprendido entre 0,05 y 1,5.

Las composiciones farmacéuticas utilizadas en el ámbito de la presente invención pueden comprender además al menos un agente activo suplementario.

35 El agente activo suplementario es preferiblemente un agente activo utilizado en el tratamiento de la aterosclerosis o de las complicaciones relacionadas con un ateroma, preferiblemente,

- una estatina,
- un agente antiagregante plaquetario o anticoagulante, preferentemente seleccionado entre la aspirina, el clopidogrel, los nuevos anticoagulantes orales tales como el dabigatrán, el apixabán, el rivaroxabán, y las
- 40 - antivitaminas K
- un agente antihipertensivo, seleccionado preferentemente entre los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina tal como el perindopril, el captopril, el enalapril, el lisinopril o el ramipril, los antagonistas del receptor de la angiotensina II tal como el losartán, el valsartán, o el candesartán, y/o entre los beta-bloqueantes tales como el acebutolol, el labetalol, el nadolol, el oxprenolol, el penbutolol, el pindolol, o el propanolol,
- 45 - o una combinación de estos.

De manera preferida, el agente activo adicional es un antagonista del receptor de la angiotensina II, tal como el losartán, el valsartán, o el candesartán.

Las composiciones farmacéuticas según la invención son susceptibles de administrarse por vía oral, por vía parenteral, o por vía cutánea o mucosal.

50 En un modo de realización particular, las composiciones de la invención se utilizan además para favorecer una disminución del nivel de triglicéridos y de ácidos grasos circulantes.

En otro modo de realización particular, las composiciones de la invención se utilizan para reducir o prevenir las placas de ateroma.

En aún otro modo de realización particular, las composiciones utilizadas en la invención están libres o sustancialmente libres de vesículas de fosfolípidos.

5 **Descripción detallada de la invención**

Los inventores han identificado un nuevo uso de una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL, y/o mediante una reducción o prevención de las placas de ateroma.

10 En particular, los inventores han descubierto, de manera sorprendente, que la composición de la invención tenía el efecto de aumentar el nivel de colesterol-HDL en un individuo y, además, disminuir el nivel de triglicéridos y de ácidos grasos circulantes, y reducir las placas de ateroma. Los inventores han demostrado así que la composición de la invención, gracias a sus diferentes propiedades, se puede utilizar especialmente en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades relacionadas con una sobrecarga, y/o un almacenamiento, y/o la acumulación de colesterol en los tejidos, así como sus consecuencias. En particular, estas enfermedades comprenden la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, y las enfermedades del sistema nervioso central, especialmente la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C.

15 La invención se refiere, por lo tanto, a una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL, en particular la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, y/o las enfermedades del sistema nervioso central, especialmente la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C. Se refiere también a una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,05 y 1,5 para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante la reducción de las placas de ateroma, o mediante la prevención de la formación de las placas de ateromas.

20 La invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, y/o las enfermedades del sistema nervioso central, especialmente la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C.

25 La invención se refiere también a métodos o procedimientos que utilizan una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina tal como se define en la presente invención para su administración en una cantidad terapéutica eficaz en un individuo que padece una enfermedad susceptible de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL, y/o mediante una reducción o prevención de las placas de ateroma, en particular la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, y/o las enfermedades del sistema nervioso central, especialmente la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C.

30 La invención se refiere también al uso de una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina tal como se define en la presente solicitud para la preparación de un medicamento para tratar y/o prevenir enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HD,L y/o mediante una reducción o prevención de las placas de ateroma, preferentemente la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma, y/o las enfermedades del sistema nervioso central, especialmente la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C.

Metil-ciclodextrinas

35 Las ciclodextrinas son unos oligosacáridos cíclicos que provienen de la degradación enzimática del almidón. Las tres ciclodextrinas naturales más habituales se componen de 6, 7 u 8 unidades de α -D-glucopiranososa en configuración de silla unidas entre sí por unos enlaces α -1,4. Se las denomina más habitualmente α , β , o γ ciclodextrina, respectivamente. Su estructura en tres dimensiones aparece en forma de un cono truncado en el exterior del cual se encuentran los grupos hidroxilo que representan la parte altamente hidrófila de las ciclodextrinas. El interior del cono o la cavidad de las ciclodextrinas está constituido por los átomos de hidrógeno portados por los carbonos C₃ y C₅, así como por los átomos de oxígeno que participan en el enlace glicosídico, confiriéndoles así un carácter apolar. Las ciclodextrinas que presentan una parte exterior hidrófila y una cavidad hidrófoba se utilizan generalmente por su capacidad para encapsular los compuestos hidrófobos y, por lo tanto, por su papel protector y solubilizante de sustancias activas hidrófobas. Se encuentran así clásicamente en los campos de la agroalimentación, pero también en galénica, en la que se usan como excipiente en formulaciones farmacéuticas administradas por vía oral, o en formulaciones cosméticas administradas por vía tópica.

Para mejorar la solubilidad acuosa de las ciclodextrinas naturales, se han sintetizado numerosos derivados mediante injerto de diferentes grupos sobre las funciones hidroxilo. Las unidades de glucopiranosas de las ciclodextrinas comprenden cada una, en efecto, 3 grupos hidroxilo reactivos, que son portados por los carbonos C2, C3 y C6.

5 Se pueden citar como ejemplos de derivados las hidroxipropil-ciclodextrinas, las metil-ciclodextrinas y los derivados "sulfatados" de ciclodextrina. Frömming y Szetli han demostrado, especialmente, en el caso de metil-ciclodextrinas, que el aumento del grado de metilación favorecía la solubilización hasta un grado de sustitución molar igual a 2, y que por encima de ese, la solubilización disminuía.

Algunos autores se han interesado también por las ciclodextrinas y sus derivados aparte de por su papel de excipiente farmacéutico.

10 Por ejemplo, la solicitud de patente WO 02/43742 describe el papel de ciclodextrinas o de hidroxipropil-ciclodextrinas en el metabolismo del colesterol, y especialmente para favorecer el eflujo del colesterol de los macrófagos. En esta solicitud, los autores recuerdan que existen dos mecanismos de acción de las ciclodextrinas. Las ciclodextrinas de alta afinidad para el colesterol actúan directamente formando complejos del colesterol membranario de los macrófagos. Por el contrario, las ciclodextrinas de baja afinidad para el colesterol actúan como catalizador del eflujo
15 del colesterol desde la membrana celular hacia un aceptor extracelular que es una vesícula de fosfolípidos. En este último caso, el eflujo del colesterol puede llevarse a cabo solamente en presencia de otro elemento que es una vesícula de fosfolípidos aceptora exógena. Así, aunque se mencionan en la técnica anterior unos efectos farmacológicos sobre el colesterol, el interés terapéutico de las ciclodextrinas sigue siendo muy discutible.

20 En efecto, las ciclodextrinas de alta afinidad, debido a su actividad en la formación de complejos del colesterol, hubieran necesitado administrarse en cantidades considerables, lo que no habría sido farmacéuticamente aceptable y que habría generado problemas de toxicidad debido a la importante cantidad de colesterol solubilizada.

En cuanto a las ciclodextrinas de baja afinidad, la necesidad de co-administrarlas con vesículas de fosfolípidos resulta ser una tecnología demasiado compleja a la vista de los conocimientos actuales, especialmente debido a que las vesículas de fosfolípidos son muy inestables.

25 El uso de metil-ciclodextrinas, entre otros agentes activos, se ha sugerido en el tratamiento de la aterosclerosis (documento WO 2006/032905). Especialmente, esta solicitud de patente sugiere que las metil-ciclodextrinas son capaces de inhibir los enlaces entre LDL oxidadas y los monocitos. El uso de las metil- β -ciclodextrinas se ha sugerido en métodos para modular la respuesta inflamatoria alterando los niveles plasmáticos de colesterol (documento US 2008/0032925). La metil- β -ciclodextrina utilizada en esta solicitud es una metil- β -ciclodextrina vendida por Sigma
30 Aldrich y que presenta un grado de sustitución molar muy superior a 1,5.

En la presente invención, los inventores utilizan unas composiciones de ciclodextrinas particulares que actúan como principio activo con el objetivo de aumentar significativamente el nivel de colesterol-HDL plasmático reduciendo al mismo tiempo al máximo los inconvenientes relacionados con la toxicidad en un paciente. Las composiciones de la invención permiten apartar los problemas de toxicidad gracias a sus características particulares, a saber, un grado de
35 sustitución, en particular de metilación, relativamente bajo, así como una baja afinidad para el colesterol.

De manera sorprendente, y a pesar de su baja afinidad para el colesterol, las metil-ciclodextrinas, y en particular las metil- β -ciclodextrinas, utilizadas según la presente invención, no necesitan la adición de vesículas de fosfolípidos para ejercer su efecto.

40 Los resultados obtenidos por los inventores sugieren un modo de acción diferente para estas metil-ciclodextrinas particulares, que no implica ni la formación de complejos de colesterol, ni la catálisis de un transporte hacia vesículas de fosfolípidos.

De manera muy original, estas metil-ciclodextrinas parecen promover el eflujo del colesterol en forma de colesterol-HDL, y no en forma de complejos con ciclodextrinas, o con vesículas de fosfolípidos.

45 Es por esto que las composiciones según la presente invención están libres o sustancialmente libres de vesículas de fosfolípidos. "Sustancialmente libres" significa en este documento que las composiciones comprenden menos del 10% de fosfolípidos en peso con respecto a la composición, preferentemente menos del 5% en peso y de manera particularmente preferida, menos del 2, 1 o 0,5% en peso. "Sustancialmente libres" puede también definirse por una relación de concentración molar entre la cantidad de ciclodextrina y la de fosfolípidos que es superior a 100, 1000, 0
10 000.

50 La presente invención se refiere por lo tanto a un nuevo uso de una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9 en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL y/o por una reducción o prevención de las placas de ateroma.

55 La invención se refiere también a un nuevo uso de una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9 en el tratamiento y/o la

prevención de la aterosclerosis o de complicaciones relacionadas con un ateroma, o las enfermedades del sistema nervioso central, en particular la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C. Se entiende por "grado de sustitución molar (MS)" el número de hidroxilos sustituidos, especialmente por un grupo metilo, por unidad de glucopiranososa. Cabe señalar que el grado de sustitución molar (MS) es diferente del grado de sustitución molecular (DS), que corresponde al número de hidroxilos sustituidos, especialmente por un grupo metilo, por molécula de ciclodextrina y que tiene en cuenta, por lo tanto, el número de unidades de glucopiranososa que constituyen la metil-ciclodextrina.

El MS se puede determinar en la presente invención por Resonancia Magnética Nuclear del protón (RMN), o por espectrometría de masas (espectrometría de masa por ionización por electronebulización (ESI-MS) o espectrometría de masas por desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI-MS)). A pesar de que estas técnicas sean bien conocidas por el experto en la materia, las condiciones óptimas de determinación de MS de las metil-ciclodextrinas según la invención están bien descritas, en particular, en la tesis de referencia de JACQUET Romain. «Cyclodextrines hydrophiles: caractérisation et étude de leurs propriétés énantiométriques et complexantes. Utilisation de la chromatographie en phase liquide et de la spectrométrie de masse». Tesis de química y psicoquímica de los compuestos de interés biológico. Universidad de Orléans, 2006. Disponible en particular en: <http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/18/55/42/PDF/jacquet.pdf> (consultado el 27.11.2013)», en particular el capítulo 2, parte B (páginas 59 a 83).

Preferentemente, el MS se determina por RMN, según el método siguiente: las mediciones se llevan a cabo a 25°C en un aparato de tipo DPX 250 MHz Advance (Bruker, Rheinstetten, Alemania). La calibración se efectúa con la señal D₂O. Las muestras de metil-ciclodextrina según la invención, y de ciclodextrina nativa, es decir no metilada, se preparan a una concentración de 5 mg en 0,75 ml de D₂O. Las disoluciones se evaporan hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno y después se reconstituyen en 0,75 ml de D₂O. Esta operación se repite dos veces a fin de asegurar un intercambio total de los protones de las funciones hidroxilo. El MS se calcula a partir de la diferencia de integración entre el espectro de la ciclodextrina nativa y el de la metil-ciclodextrina según la invención. Un espectro típico se muestra en la Figura 1.

Cabe señalar que la metil-ciclodextrina utilizada según la invención, aunque puede corresponder a un producto puro, corresponde generalmente a una mezcla de metil-ciclodextrinas de estructuras diferentes. Es el caso, por ejemplo, del producto vendido por la Solicitante bajo la denominación KLEPTOSE® CRYSMEB, que presenta especialmente las propiedades fisicoquímicas como las determinadas en la tesis de JACQUET Romain antes citada, en particular en el capítulo 2, parte B (páginas 59 a 83).

De ello resulta que el MS medido es, en este caso, una media de sustituciones que se realiza sobre el conjunto de las unidades de glucopiranososa del conjunto de la mezcla de metil-ciclodextrinas.

Esta mezcla puede contener especialmente ciclodextrina nativa residual, es decir, no metilada, pero que se encuentra generalmente en cantidades insignificantes, en particular inferiores al 1% en peso seco con respecto al peso seco total de la metil-ciclodextrina, preferiblemente inferior al 0,5%, más preferiblemente inferior al 0,1%.

En el contexto de la invención, las composiciones comprenden al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido preferiblemente entre 0,5 y 0,9, preferiblemente entre 0,6 y 0,8, por ejemplo de 0,7, especialmente de 0,67. Por ejemplo, la metil-ciclodextrina puede tener un MS comprendido entre 0,50 y 0,90, entre 0,60 y 0,80.

Preferiblemente, al menos el 50% de los grupos metilo de la metil-ciclodextrina utilizada en el ámbito de la presente invención están localizados a nivel del hidroxilo portado por el carbono C2 de la unidad de glucopiranososa, preferiblemente entre el 60 y el 80%, típicamente del orden del 75%.

Paralelamente, los otros grupos metilos generalmente están mayoritariamente localizados a nivel del hidroxilo portado por el carbono C3 y/o C6 de la unidad de glucopiranososa.

El experto en la materia sabrá cómo determinar la distribución de los grupos metilo sobre los hidroxilos de la unidad de glucopiranososa de la metil-ciclodextrina, por ejemplo por RMN. Ventajosamente, la metil-ciclodextrina utilizada en el ámbito de la presente invención comprende 7 unidades de α -D-glucopiranososa. Se trata por lo tanto de una metil- β -ciclodextrina.

En un modo de realización particular, la metil-ciclodextrina es una metil- β -ciclodextrina, y tiene un MS comprendido preferiblemente entre 0,5 y 0,9, preferiblemente entre 0,6 y 0,8, por ejemplo de 0,7, especialmente de 0,67. Por ejemplo, la metil-ciclodextrina puede tener un MS comprendido entre 0,50 y 0,90, entre 0,60 y 0,80.

La metil-ciclodextrina puede estar sustituida en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa, o por los carbonos C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranososa, o por una combinación de los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6 de las unidades de glucopiranososa.

En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina es una metil-ciclodextrina, preferentemente una metil- β -ciclodextrina, de la cual al menos el 50% de los grupos metilo están localizados a nivel del hidroxilo portado por el

carbono C2 de la unidad de glucopiranososa, preferiblemente entre el 60 y el 80%, típicamente del orden del 75%, y tiene un MS comprendido preferiblemente entre 0,5 y 0,9, preferiblemente entre 0,6 y 0,8, por ejemplo de 0,7, especialmente de 0,67. Por ejemplo, la metil-ciclodextrina puede tener un MS comprendido entre 0,50 y 0,90, entre 0,60 y 0,80.

5 En un modo de realización preferida, la composición de metil-ciclodextrinas comprende una o varias metil- β -ciclodextrinas seleccionadas del grupo que consiste en metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por el carbono C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranososa, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6 de las unidades de glucopiranososa, y que tienen un MS comprendido
10 preferiblemente entre 0,5 y 0,9, preferiblemente entre 0,6 y 0,8, por ejemplo de 0,7, especialmente de 0,67. Por ejemplo, la metil-ciclodextrina puede tener un MS comprendido entre 0,50 y 0,90, entre 0,60 y 0,80. Preferentemente, la composición de metil-ciclodextrinas comprende al menos un 50, 60 o 75% de metilos sustituidos en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa.

15 Como se ha mencionado anteriormente, la metil-ciclodextrina según la invención puede ser una mezcla. El análisis por espectrometría de masas del producto KLEPTOSE® CRYSMEB, que es una metil- β -ciclodextrina, revela, en particular, que se trata de un producto polidispersado, que comprende siete grupos de metil-ciclodextrinas mayoritarios, que se distinguen por su DS. Este DS, que en teoría puede variar de 0 a 21 para una metil- β -ciclodextrina, varía de 2 a 8 en el producto KLEPTOSE® CRYSMEB.

20 Ventajosamente, las composiciones de la invención comprenden una mezcla de metil-ciclodextrinas que comprende al menos un 50, 60, 70, 80 o 90% de metil-ciclodextrinas que presentan un MS comprendido entre 0,2 y 1,2. Preferentemente, al menos un 40, 50, 60, 70, 80 o 90% de metil-ciclodextrinas presentan un MS comprendido entre 0,3 y 1,1. Preferentemente al menos un 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% de metil-ciclodextrinas presentan un MS comprendido entre 0,5 y 0,9. Aún más preferiblemente, al menos un 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80 o 90% de metil-ciclodextrinas presentan un MS comprendido entre 0,6 y 0,8.

25 Las composiciones de metil-ciclodextrinas pueden prepararse eventualmente añadiendo diferentes metil-ciclodextrinas que presentan unos MS definidos para obtener unas composiciones tales como las definidas en la presente invención, o pueden obtenerse como resultado de la síntesis de estas.

Por tanto, en otro modo de realización particular, la composición de metil-ciclodextrinas, preferentemente metil- β -ciclodextrinas, presenta el perfil de sustitución, expresado en porcentajes molares, siguiente:

- 30
- del 0 al 5% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 2 grupos metilo (DS de 2);
 - del 5 al 15% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 3 grupos metilo (DS de 3);
 - del 20 al 25% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 4 grupos metilo (DS de 4);
 - del 25 al 40% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 5 grupos metilo (DS de 5);
 - del 15 al 25% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 6 grupos metilo (DS de 6);
 - 35 ◦ del 5 al 15% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 7 grupos metilo (DS de 7);
 - del 0 al 5% de metil - β - ciclodextrinas comprenden 8 grupos metilo (DS de 8);

siendo la suma total generalmente del orden del 100%, aunque la composición pueda contener eventualmente trazas de metil-ciclodextrinas de DS diferente, así como trazas de ciclodextrina nativa, es decir no metilada.

40 El perfil de sustitución puede determinarse mediante cualquier técnica bien conocida por el experto en la materia, por ejemplo por ESI-SM o MALDI-TOF-SM. Las condiciones óptimas de determinación del perfil de sustitución mediante estos dos métodos especialmente se describen ampliamente en la tesis de Romain JACQUET antes citada, en el capítulo 2, parte B, puntos II.3 y II.2 (páginas 67 a 82) y en el Anexo II.

45 En un modo de realización preferido, la composición de metil-ciclodextrinas, preferentemente de metil- β -ciclodextrinas, es tal que al menos el 50% de los grupos metilo están localizados a nivel del hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa, preferiblemente entre el 60 y el 80%, típicamente del orden del 75%, y que presenta el perfil de sustitución, expresado en porcentajes molares, siguiente:

- del 0 al 5% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 2 grupos metilo (DS de 2);
- del 5 al 15% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 3 grupos metilo (DS de 3);
- del 20 al 25% de metil- β -ciclodextrinas comprenden 4 grupos metilo (DS de 4);

- del 25 al 40% de metil-β-ciclodextrinas comprenden 5 grupos metilo (DS de 5);
- del 15 al 25% de metil-β-ciclodextrinas comprenden 6 grupos metilo (DS de 6);
- del 5 al 15% de metil-β-ciclodextrinas comprenden 7 grupos metilo (DS de 7);
- del 0 al 5% de metil-β-ciclodextrinas comprenden 8 grupos metilo (DS de 8);

5 siendo la suma total generalmente del orden del 100%, aunque la composición pueda contener eventualmente trazas de metil-ciclodextrinas de DS diferente, así como trazas de ciclodextrina nativa, es decir no metilada.

Por otro lado, es perfectamente posible considerar hacer variar en proporciones o aislar unas moléculas o grupos de moléculas de metil-ciclodextrinas, especialmente en función de su DS.

10 Así, en otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina es una metil-β-ciclodextrina que presenta un DS seleccionado entre un número entero que varía de 2 a 8, en particular 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.

En otro modo de realización preferido, la metil-ciclodextrina es una metil-β-ciclodextrina de la cual al menos el 50% de los grupos metilo están localizados a nivel del hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranosas, preferiblemente entre el 60 y el 80%, típicamente del orden del 75%, y que presenta un DS seleccionado entre un número entero que varía de 2 a 8, en particular 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8.

15 En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina, en particular la metil-β-ciclodextrina, tiene un MS comprendido entre 0,5 y 0,6, especialmente entre 0,50 y 0,60. En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina, en particular la metil-β-ciclodextrina, tiene un MS comprendido entre 0,6 y 0,7, especialmente entre 0,60 y 0,70. En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina, en particular la metil-β-ciclodextrina, tiene un MS comprendido entre 0,7 y 0,8, especialmente entre 0,70 y 0,80. En otro modo de realización particular, la metil-ciclodextrina, en particular la metil-β-ciclodextrina, tiene un MS comprendido entre 0,8 y 0,9, especialmente entre 0,80 y 0,90.

Generalmente, la metil-ciclodextrina utilizada según la invención presenta un contenido en azúcares reductores inferior al 1% en peso seco, preferiblemente inferior al 0,5%.

25 La composición de metil-β-ciclodextrinas según la invención se puede obtener mediante el procedimiento descrito en la patente US 6,602,860 B1. Un ejemplo de tal composición se comercializa por el grupo ROQUETTE FRERES con el nombre comercial de KLEPTOSE® CRYSMEB y presenta un grado de sustitución molar de 0,7 o más precisamente de 0,67 metilos por unidad de glucosa.

30 Opcionalmente, la composición según la presente invención puede comprender además una ciclodextrina, en particular β-ciclodextrina, no sustituida y/o una ciclodextrina, en particular β-ciclodextrina, sustituida con unos grupos sulfobutiléter (SBE-), hidroxietilo, hidroxipropilo (HP-), carboximetilo, carboxietilo, acetilo, triacetilo, succinilo, etilo, propilo, butilo, sulfato, preferentemente sulfobutilo e hidroxipropilo, preferentemente con un grado de sustitución molar comprendido entre 0,05 y 1,5.

35 Opcionalmente, la metil-ciclodextrina según la invención, en particular la metil-β-ciclodextrina, puede sustituirse con grupos adicionales, seleccionados especialmente entre los enumerados anteriormente. Podrá tratarse, por lo tanto, por ejemplo, de una metil-β-ciclodextrina sulfatada.

40 En un modo de realización distinto, la presente invención considera también el uso, para el tratamiento de enfermedades según la presente invención, de otros derivados de ciclodextrinas, preferentemente de β-ciclodextrina, que presentan un grado de sustitución molar según la presente invención, es decir, comprendido preferiblemente entre 0,5 y 0,9, preferiblemente entre 0,6 y 0,8, por ejemplo de 0,7. Estos derivados de ciclodextrina, preferentemente de β-ciclodextrina, están sustituidos con un grupo seleccionado entre los sulfobutiléteres (SBE-) y los hidroxipropilos (HP-). Preferentemente, estas sustituciones se portan mayoritariamente por el carbono C2 de las unidades de glucopiranosas, típicamente en el 50%, 60%, 70% o 80%.

45 En un modo de realización alternativo de la invención, las metil-ciclodextrinas como las definidas en la presente solicitud y compuestas de unidades de α-D-glucopiranosas unidas entre sí por enlaces α-1,4 pueden sustituirse en parte o en su totalidad por unas unidades de α-D-glucopiranosas unidas entre sí por enlaces α-1,6 en las composiciones farmacéuticas de la presente invención.

Aplicación

50 En el contexto de la presente invención, las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos una metil-ciclodextrina como la definida en la presente solicitud se utilizan en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante aumento del nivel de colesterol-HDL y/o mediante una reducción o prevención de las placas de ateroma, en particular, la aterosclerosis o complicaciones relacionadas con un ateroma,

y/o las enfermedades del sistema nervioso central, en particular la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson o de Niemann Pick de tipo C.

5 En el contexto de la presente invención, el aumento del nivel de colesterol-HDL se mide en cualquier tipo de fluido biológico. Se trata preferiblemente del nivel de colesterol-HDL plasmático. Este nivel de colesterol-HDL se puede medir mediante cualquier método conocido por el experto en la materia, por ejemplo por precipitación, o por métodos directos en fase homogénea que utilizan técnicas inmunológicas. También es posible un análisis de la parte proteica (proteína Apo AI) que comprende los HDL.

10 El nivel de colesterol-HDL se expresa generalmente en número de moles de colesterol transportado por las lipoproteínas de alta densidad (HDL) por litro de sangre. El colesterol-HDL se asemeja al "colesterol bueno", contrariamente al colesterol transportado por LDL.

15 Según la invención, las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante aumento del nivel de colesterol-HDL son todas las enfermedades cuyos síntomas y/o causas desaparecen o se atenúan en un paciente cuando el nivel de colesterol-HDL es superior al nivel de colesterol-HDL antes del tratamiento. Preferentemente, las enfermedades son las susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL. Por "aumento" se puede entender un aumento del nivel de colesterol-HDL de al menos un 5, 7,5, 10, 15 o 20%.

Las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante aumento del nivel de colesterol-HDL son preferiblemente las enfermedades relacionadas con una sobrecarga, y/o un almacenamiento, y/o con la acumulación de colesterol en los tejidos, así como sus consecuencias.

20 Como ejemplos de enfermedades susceptibles de estar relacionadas con una sobrecarga, y/o un almacenamiento, y/o con la acumulación de colesterol en los tejidos se pueden citar as enfermedades cardiovasculares, las enfermedades vasculares, las enfermedades arteriales periféricas oclusivas tales como la aterosclerosis o las complicaciones relacionadas con un ateroma.

25 Como otros ejemplos, se pueden citar las enfermedades del sistema nervioso central susceptibles de estar relacionadas con una sobrecarga, y/o un almacenamiento, y/o con la acumulación de colesterol en los tejidos del sistema nervioso central.

Tales enfermedades comprenden, de manera no limitativa, la enfermedad de Alzheimer, de Parkinson, y las enfermedades lisosomales que afectan el sistema nervioso central.

30 Como ejemplos de enfermedades lisosomales, se pueden citar, sin limitación, la enfermedad de Niemann Pick, tal como la enfermedad de Niemann Pick de tipo A, la enfermedad de Niemann Pick de tipo B, o la enfermedad de Niemann Pick de tipo C.

Un ejemplo particular es la enfermedad de Niemann Pick de tipo C, caracterizada por una acumulación de colesterol no esterificado en el Sistema Nervioso Central (SNC).

En un modo de realización preferido, la enfermedad se selecciona entre la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Niemann Pick de tipo C.

35 Otro ejemplo particular se refiere a la enfermedad de Alzheimer. La acumulación de colesterol en el cerebro puede también ser el origen de la enfermedad de Alzheimer y un aumento del nivel de colesterol-HDL favorece su transporte hacia el hígado, donde se degrada. Los datos sugieren, de manera insistente, que un mal funcionamiento del metabolismo del colesterol en el cerebro y a nivel del sistema vascular está, según toda probabilidad, estrechamente implicado en la enfermedad de Alzheimer.

40 La presencia de un nivel demasiado elevado de colesterol se considera frecuentemente como un factor de riesgo para la aparición de trastornos cognitivos, demencia o enfermedad de Parkinson. La implicación del colesterol en el aumento del riesgo de enfermedad de Parkinson también se ha mencionado en varios estudios.

45 En este contexto, un tratamiento cuyo efecto es un aumento del nivel de colesterol-HDL que contribuye al transporte del colesterol en exceso hacia el hígado, donde se degrada, tiene pleno sentido para esta aplicación. En efecto, un conjunto de observaciones, de datos estadísticos y de experimentos a nivel molecular conducen a dar un papel cada vez más significativo al metabolismo del colesterol en la génesis de la enfermedad de Alzheimer. En particular, se establece firmemente una convergencia entre la aterosclerosis y la enfermedad de Alzheimer (AD), así como entre la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C. Esta última enfermedad rara se caracteriza por la acumulación excesiva de colesterol en las células nerviosas.

50 Por otro lado, la presente invención se refiere también a las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante reducción o prevención de las placas de ateroma. Por reducción de las placas de ateroma se entiende preferentemente que las placas presentan una superficie más pequeña en presencia del tratamiento que en ausencia del mismo. Especialmente, la reducción de la superficie de las placas del 10, 20, 30, 40 o 50%. Preferentemente, esta reducción es de al menos un 30 o un 40%. La superficie de las placas de ateroma se puede determinar mediante

cualquier método conocido por el experto en la materia, y especialmente los métodos de generación de imágenes médicas tales como IRM (generación de Imágenes por Resonancia Magnética). Por prevención de las placas de ateroma se entiende una disminución del desarrollo o de la formación de estas placas.

5 Las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante una reducción o prevención de las placas de ateroma son, en particular, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades vasculares, y preferiblemente las enfermedades arteriales periféricas oclusivas, tales como la aterosclerosis o las complicaciones relacionadas con un ateroma.

10 Según la invención, las enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse son preferiblemente la aterosclerosis o las complicaciones relacionadas con un ateroma, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C y, ventajosamente, la aterosclerosis o las complicaciones relacionadas con un ateroma.

15 Las complicaciones relacionadas con un ateroma que se tratan y/o previenen con el uso de una composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina de la invención son, de manera no limitativa, la isquemia, por ejemplo la isquemia del miocardio, las enfermedades coronarias, la angina de pecho, el síndrome coronario agudo, el infarto del miocardio, el infarto mesentérico, el accidente cerebrovascular, el aneurisma o la arteriopatía de las extremidades inferiores.

20 En otro modo de realización particular, las composiciones de la invención utilizadas comprenden además al menos un agente activo suplementario. El agente activo suplementario se selecciona preferiblemente del grupo de los agentes activos conocidos por el experto en la materia para tratar y/o prevenir la aterosclerosis o las complicaciones relacionadas con un ateroma.

25 Los sujetos a tratar son, preferentemente, humanos o animales, preferentemente humanos. Pueden tener una enfermedad demostrada (diagnosticada o establecida) o estar en riesgo de desarrollar esta enfermedad. Especialmente, la presente invención entiende por "tratamiento" una disminución de las causas o síntomas de una enfermedad, el retraso de la aparición de la enfermedad, una disminución del desarrollo de esta, pero también una curación de la misma.

Como ejemplos de activos utilizados en el tratamiento de la aterosclerosis o de las complicaciones relacionadas con un ateroma, se pueden citar:

- las estatinas;

- los agentes antihipertensivos, en particular:

- 30 ◦ los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina, por ejemplo el perindopril, el captopril, el enalapril, el lisinopril, o el ramipril;

- los antagonistas del receptor de la angiotensina II, también conocidos bajo los nombres de "sartanes", tales como el losartán, el valsartán, el candesartán;

- 35 ◦ los beta-bloqueantes, tales como el acebutolol, el labetalol, el nadolol, el oxprenolol, el penbutolol, el pindolol, o el propanolol;

- los antiagregantes plaquetarios o anticoagulantes, en particular:

- la aspirina;

- el clopidogrel (PLAVIX®);

- 40 ◦ nuevos anticoagulantes orales tales como el dabigatran/Pradaxa®, el apixaban/Eliquis®, el rivaroxaban/Xarelto®, indicados en la prevención de las flebitis, de las embolias o de los accidentes cerebrovasculares en la indicación de fibrilación auricular;

- antivitaminas K, muy eficaces pero poco utilizadas en la actualidad, ya que necesitan una vigilancia muy estricta de la coagulación.

45 Preferentemente, el agente activo suplementario se seleccionará entre los antagonistas del receptor de la angiotensina II.

50 Las composiciones según la presente invención son susceptibles de administrarse por vía oral, parenteral, mucosal o cutánea. La vía parenteral comprende preferiblemente la administración subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraperitoneal, aunque esta última está más bien reservada para animales. La vía mucosal comprende preferiblemente la administración por vía nasal, por vía pulmonar, por la mucosa rectal. La vía cutánea comprende ventajosamente la vía dérmica, especialmente mediante un dispositivo transdérmico, típicamente un parche. Otras vías de administración que se refieren, más particularmente, a las enfermedades que afectan al Sistema Nervioso Central (SNC), en particular

la enfermedad de Niemann-Pick de tipo C, la enfermedad de Parkinson o la enfermedad de Alzheimer, son la vía intratecal o espinal.

5 Las composiciones según la presente invención comprenden también un excipiente farmacéuticamente aceptable. Se puede utilizar cualquier excipiente adaptado para las formas galénicas conocidas por el experto en la materia, en particular para una administración sistémica, preferiblemente para una administración oral, en una administración parenteral, una administración cutánea o mucosal, especialmente por vía subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, nasal, pulmonar, rectal, dérmica, intratecal o espinal.

10 Se pueden citar, por ejemplo, unas soluciones salinas, fisiológicas, isotónicas, tamponadas, etc., compatibles con un uso farmacéutico y conocidas por el experto en la materia. Las composiciones pueden contener uno o varios agentes o vehículos seleccionados entre los dispersantes, solubilizantes, estabilizantes, conservantes, etc. Unos agentes o vehículos utilizables en formulaciones (líquidas y/o inyectables) son especialmente la metilcelulosa, la hidroximetilcelulosa, la carboximetilcelulosa, el polisorbato 80, el manitol, la gelatina, la lactosa, aceites vegetales, la goma arábiga, los liposomas, etc. Las composiciones pueden formularse en forma de suspensiones inyectables, geles, aceites, comprimidos, supositorios, polvos, cápsulas de gel, cápsulas, aerosoles, etc., eventualmente mediante formas galénicas o dispositivos que aseguran una liberación prolongada y/o retardada. Para este tipo de formulación, se utiliza ventajosamente un agente tal como la celulosa, los carbonatos o los almidones.

20 Se puede imaginar ventajosamente una forma galénica en la que la ciclodextrina según la invención se administra en una forma en complejo con una sustancia lipídica, a fin de permitir su paso a la circulación sanguínea después de la administración por vías no invasivas, y/o, en el caso en el que se desee el cruce de la barrera hematoencefálica, para permitir el cruce de esta barrera. Entre estas sustancias lipídicas, se puede citar especialmente el tocoferol.

25 Las composiciones susceptibles de administrarse en un individuo en el ámbito de la invención comprenden entre 1 y 1000 mg/kg, preferiblemente entre 20 y 70 mg/kg, aún más preferiblemente entre 30 y 50 mg/kg, y de manera aún más preferida 40 mg/kg de metil-ciclodextrina, tal como se define en la presente invención, con respecto al peso total del individuo. Por supuesto, el experto en la materia sabrá adaptar la dosis de metil-ciclodextrina definida en la presente solicitud en función del peso del individuo a tratar.

30 Ventajosamente, las composiciones son, por lo tanto, susceptibles de administrarse en una cantidad terapéutica eficaz en un individuo que padece una enfermedad susceptible de tratarse y/o prevenirse mediante aumento del nivel de colesterol-HDL, o en un individuo predispuesto a desarrollar tal enfermedad. Se entiende por cantidad terapéutica eficaz una cantidad de composición suficiente susceptible de administrarse en un individuo para prevenir y/o tratar una enfermedad, como se define en la presente invención.

35 Las composiciones utilizadas en la invención se pueden administrar según modalidades variables. En particular, pueden inyectarse de una a cinco veces por semanas durante 1, 2, 3, 4 semanas, incluso 1, 2, 3 o más meses. Las modalidades de administración incluyen también los tratamientos a intervalos espaciados por varias semanas o por varios meses. Para el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis en particular, se considerará ventajosamente una administración a intervalo de 3 a 6 meses, que puede ir hasta 12 meses, de una duración de una semana.

Otro objeto de la invención se refiere al uso de las composiciones farmacéuticas como las definidas en la presente solicitud para favorecer además una disminución del nivel de triglicéridos y de ácidos grasos circulantes.

Un objeto suplementario de la invención se refiere al uso de las composiciones farmacéuticas como las definidas en la presente solicitud para reducir las placas de ateroma.

40 El uso de las composiciones de la invención permite, al mismo tiempo, aumentar el nivel de colesterol-HDL, disminuir los niveles de triglicéridos y de ácidos grasos que circulan en la sangre, y reducir las placas de ateroma. La composición de la invención permite también inducir una disminución de MMP-9 responsables del debilitamiento de las placas de ateroma, y, por lo tanto, de las complicaciones relacionadas con el ateroma. Todos estos efectos se obtienen sin modificación del nivel de colesterol-LDL, y sin que se haya observado ninguna toxicidad. La disminución de MMP-9 sugiere, por otro lado, el interés de la composición según la invención para un uso en el tratamiento y/o la prevención del cáncer.

50 Las composiciones como las definidas en la presente solicitud presentan también una ventaja en sujetos sanos. Las composiciones de la invención permiten especialmente reducir el nivel de triglicéridos y la concentración de ácidos grasos libres, y aumentar el nivel de colesterol bueno (Colesterol-HDL), favoreciendo así la buena salud del sujeto. Es por ello que la presente invención se refiere también a un uso no terapéutico de las composiciones de metil-ciclodextrinas como las definidas anteriormente en la presente solicitud para reducir el nivel de triglicéridos y/o para reducir la concentración de ácidos grasos libres y/o para aumentar el nivel de colesterol bueno (Colesterol-HDL). Por tanto, la composición de metil-ciclodextrina según la presente invención se puede usar como composición nutracéutica, alicamento, alimento funcional o complemento alimentario. Por composición nutracéutica, alicamento, alimento funcional, se entiende aquí un alimento que contiene unos ingredientes que tienen unos efectos beneficiosos para la salud o capaces de mejorar las funciones fisiológicas. Por complemento alimentario se entiende unos alimentos que tienen como objetivo complementar la dieta alimentaria normal.

Los sujetos normales o sanos más propicios para beneficiarse de estas composiciones son unos individuos que tienen 40 años o más, preferentemente 50 años o más, y por ejemplo que tienen entre 50 y 70 años. Estos sujetos no padecen ninguna patología. La composición está destinada a la alimentación humana y puede adoptar cualquier forma, y especialmente puede ser un líquido, una pasta o un sólido. Especialmente, la composición puede ser un producto lácteo tal como queso, mantequilla, yogur o una crema, un producto a base de fruta como un zumo de fruta, una compota o una pasta de fruta, una bebida, o un alimento sólido, como un tentempié, una galleta, u otros. Puede también formularse en forma de comprimidos, de un polvo, de una cápsula, de un comprimido, de una disolución, de un concentrado, de un jarabe, de una suspensión, o de una dispersión.

Los ejemplos siguientes sirven para ilustrar y mostrar otros aspectos y ventajas de la invención y deben considerarse como no limitativos.

Leyenda de las figuras

Figura 1: Espectro RMN¹H de una metil-β-ciclodextrina según la invención.

Figura 2: Medición de los eflujos de colesterol en función del MS de las metil-β-ciclodextrinas.

Figura 3: Expresión del transportador ABCA1 en función del MS de las metil-β-ciclodextrinas.

Figura 4: Expresión del transportador ABCG1 en función del MS de las metil-β-ciclodextrinas.

Figura 5: Expresión del receptor SR-B1 en función del MS de las metil-β-ciclodextrinas.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Estudio *in vivo* de las metil-β-ciclodextrinas de la invención.

Se utilizaron unos ratones macho Apo E -/- de 11 semanas de edad.

La composición de metil-ciclodextrina utilizada es el producto comercial KLEPTOSE® CRYSMEB (ROQUETTE).

Los ratones se distribuyeron en 6 grupos:

- 2 grupos de ratones sometidos a una dieta normal durante 16 semanas. Este modelo de ateroma se caracteriza por una enfermedad prematura. El primer grupo se trató con una disolución placebo (ratones controles, n=9), el segundo grupo se trató con 40 mg/kg de KLEPTOSE® CRYSMEB (ratones tratados, n=12).

- 2 grupos de ratones sometidos a una dieta rica en colesterol durante 11 semanas. Este modelo de ateroma se caracteriza por una enfermedad avanzada, el primer grupo se trató con una disolución placebo (ratones controles, n=9), el segundo grupo se trató con 40 mg/kg de KLEPTOSE® CRYSMEB (ratones tratados, n=11).

Los tratamientos se llevaron a cabo por inyección intraperitoneal de un volumen de 200 μl de placebo (disolución de PBS) o de disolución KLEPTOSE® CRYSMEB tres veces por semana.

Las extracciones sanguíneas se efectuaron con el sacrificio de los animales, después de las 16 u 11 semanas de tratamiento, por punción cardiaca, a fin de determinar el impacto del tratamiento sobre la lipidemia.

Se midieron otros valores, tales como la glucemia, los valores de hematocrito (nivel de hemoglobina, recuento de los eritrocitos, leucocitos, linfocitos y plaquetas) sin que se haya observado ninguna diferencia entre los diferentes grupos de ratones. En consecuencia, estos resultados no se presentan en este documento.

Después del sacrificio, se realizó además una cuantificación de la superficie ateromatosa sobre cada grupo de ratones por morfometría asistida por ordenador ("computed-assisted morphometry" en inglés), sobre 4 secciones aórticas de 10 μm marcadas con hematoxilina y Oil-ref-O, extraídas a 200, 400, 600 y 800 μm después del comienzo de la válvula cúspide, según el método descrito en el artículo "Caligiuri G, Groyer E, Khallou-Laschet J, Al Haj Zen A, Sainz J, Urbain D *et al.* Reduced immunoregulatory CD31+ T cells in the blood of atherosclerotic mice with plaque thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1659-1664". Se efectuaron también unos marcajes inmuno-histoquímicos de MMP-9 de las placas de ateroma y se cuantificaron a fin de determinar su fragilidad (kit R&D Systems).

Los resultados obtenidos son presentados en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1: Ratones sometidos a una dieta normal y tratados con una composición de metil-ciclodextrina según la invención

	Ratones controles (n=9)	Ratones tratados (n=12)	p
Peso del cuerpo (g)	31,84 ± 2,70	30,71 ± 3,09	0,4137
Lipidemia			
Colesterol total (mmol/l)	14,49 ± 1,65	14,19 ± 3,02	0,8070
Colesterol-LDL (mmol/l)	9,29 ± 1,22	9,76 ± 2,34	0,8621
Colesterol-HDL (mmol/l)	2,77 ± 0,15	3,03 ± 0,38	0,1451
Triglicéridos (mmol/l)	2,20 ± 0,66	1,65 ± 0,55	0,0491
Ácidos grasos libres (mmol/l)	1,33 ± 0,36	1,03 ± 0,40	0,0955
Cavidad de la válvula aórtica			
Oil-red-O, x 10³ μm²	295,06 ± 36,25	246,14 ± 46,38	0,0278
MMP-9,%	6,35 ± 4,78	3,26 ± 4,84	0,0481
Aorta			
Área superficial de la placa (%)	5,56 ± 2,65	3,39 ± 1,26	0,0278
Los valores se expresan en promedio ± desviación estándar.			
Los valores de p se calculan según el ensayo U Mann-Whitney.			

Tabla 2: Ratones sometidos a una dieta rica en colesterol y tratados con una composición de metil-ciclodextrinas según la invención

	Ratones control (n=9)	Ratones tratados (n=11)	p
Peso del cuerpo (g) Lipidemia	30,44 ± 2,34	28,34 ± 2,80	0,1194
Colesterol total (mmol/l)	21,48 ± 1,37	20,17 ± 1,37	0,4119
Colesterol-LDL (mmol/l)	17,05 ± 3,81	17,51 ± 4,00	0,9999
Colesterol-HDL (mmol/l)	3,44 ± 0,49	4,16 ± 0,82	0,0334
Triglicéridos (mmol/l)	1,47 ± 0,65	0,90 ± 0,36	0,0136
Ácidos grasos libres (mmol/l)	0,99 ± 0,25	0,75 ± 0,20	0,0310
Cavidad de la válvula aórtica			
Oil-red-O, x 10 ³ μm ²	465,56 ± 66,99	439,45 ± 86,58	0,4119
MMP-9,%	22,80 ± 15,88	12,45 ± 9,80	0,1119
Aorta			
Área superficial de la placa (%)	24,73 ± 6,75	15,00 ± 7,56	0,0200
Los valores se expresan en promedio ± desviación estándar.			
Los valores de p se calculan según el ensayo U Mann-Whitney.			

- 5 Cabe señalar en estos resultados que el desplazamiento de los valores resultantes del tratamiento se obtiene no solamente después de una dieta rica, sino también y de manera sorprendente y favorable tras una dieta normal, no enriquecida en colesterol.

En los dos casos, en efecto, se observó un aumento del nivel de colesterol-HDL, que muestra la ventaja de las metil-ciclodextrinas según la invención para un uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL.

5 En los dos casos, la superficie de las placas de ateroma se reduce significativamente. Se observó una reducción sustancial, de cerca del 40%, en el área superficial ateromatosa. Estos resultados demuestran la ventaja de las metil-ciclodextrinas según la invención, para un uso en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o de las complicaciones relacionadas con un ateroma.

10 Se observó una disminución del nivel de triglicéridos, de los ácidos grasos libres y del nivel de MMP-9, y refuerza la ventaja de las metil-ciclodextrinas según la invención, para un uso en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o de las complicaciones relacionadas con un ateroma.

Ejemplo 2: Estudio *in vitro* de las metil-ciclodextrinas de la invención.

Ese ejemplo ilustra el efecto de diferentes ciclodextrinas sobre los eflujos de colesterol ensayados con células endoteliales aórticas. El endotelio aórtico es el tejido de la placa de ateroma que se encuentra en contacto directo con el compartimento sanguíneo, y por lo tanto en contacto directo con HDL.

15 Material

Células: las células endoteliales eran unas células endoteliales aórticas de bovino adulto (ABAE).

20 Ciclodextrinas: las ciclodextrinas utilizadas fueron las siguientes: una β -ciclodextrina no metilada, a continuación designada " β -CD", una metil- β -ciclodextrina que presenta un MS de 0,2, en lo sucesivo designada "M β CD-0,2", una metil- β -ciclodextrina que presenta un MS de 0,67 (KLEPTOSE® CRYSMEB, ROQUETTE FRERES), en lo sucesivo designada "M β CD-0,67", una metil- β -ciclodextrina que presenta un MS de 1,8 (RAMEB®, CYCLOLAB), en lo sucesivo designada "M β CD-1,8".

Incubación de las células con ciclodextrinas:

25 Se incorporaron 0,5 μ Ci/ml de H3-colesterol en suero (un 10% de suero de caballo/ternero (HS/CS)) durante 6 horas a 37°C con el objetivo de obtener un medio de cultivo enriquecido con colesterol radiactivo. Después de esta incorporación, el medio de cultivo se finalizó con la incorporación de DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's médium) suplementado con el 10% de HS, el 10% de CS, bFGF (basic fibroblast growth factor) 1 ng/ml, glutamina 2 mM y Gentamicina 50 μ g/ml.

30 Después, las células se cultivaron en este medio radiactivo durante 36 horas para permitirles incorporar el colesterol radiactivo. El medio se eliminó después y las células se aclararon dos veces con DMEM caliente que contenía un 0,1% de albúmina de suero bovino (SAB).

Las células se cultivaron después en DMEM/bFGF 1 ng/ml que contenía 1 mM de cada ciclodextrina, durante 24 horas (1,4 ml/pocillo).

A. Medición del colesterol captado por las ciclodextrinas

35 En este ejemplo, la Solicitante estudió el efecto de las ciclodextrinas sobre los eflujos de colesterol, en función de su grado de metilación.

40 Dos horas después del inicio de la incubación en presencia de cada ciclodextrina, se extrajeron 500 μ l de medio y se efectuó la evaluación de colesterol radiactivo capturado por la ciclodextrina mediante un contador de centelleo (Tri-carb 2100TR). La radiactividad se midió en desintegración por minuto (DPM). Se estimó después la capacidad de cada ciclodextrina para capturar el colesterol celular realizando el cálculo siguiente: ((1,4 ml/0,5 ml)* DPM medidas). Los valores se convirtieron después en forma de porcentaje, que se compararon con la condición incubada sin ciclodextrina (control) que representa el 100%.

Cada experimento se realizó por triplicado y se repitió dos veces.

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 2.

Resultados:

45 Las M β CD-0,2 y M β CD-0,67 de acuerdo con la invención provocan un eflujo de colesterol claramente menor que las β CD y M β CD-1,8 no de acuerdo con la invención.

Por lo tanto, los inventores han demostrado una afinidad más baja con respecto al colesterol para las ciclodextrinas metiladas según la invención que ilustran un eflujo de colesterol en forma de colesterol-HDL y no en una forma de colesterol en complejo con ciclodextrinas, o con vesículas de fosfolípidos.

B. Expresión de los transportadores responsables del eflujo del colesterol intracelular: ABCA1 y ABCG1

En este ejemplo, la Solicitante ha estudiado la expresión de dos transportadores responsables de los eflujos de colesterol, el receptor ABCA1 y el receptor ABCG1, después de un tratamiento con ciclodextrinas de diferentes grados de metilación.

5 Después de 24 horas de tratamiento con cada ciclodextrina, las células se aclararon dos veces en PBS frío (8 g/l NaCl, 0,2 g/l KCl, 0,2 g/l KH₂PO₄, 2,87 g/l NA₂HPO₄ (12H₂O), pH 7,4) y se lisaron gracias a 500 µl de tampón de lisis RLT (Biorad). Se utilizaron tres pocillos y se pusieron en grupos para cada condición. La purificación de los ARN mensajeros (ARNm) se efectuó utilizando el kit RNeasy total RNA extraction kit (Qiagen) siguiendo las recomendaciones del fabricante. Al final de esta etapa de purificación, se estimó la concentración de los ARNm gracias a los valores de absorbancia obtenidos a 260, 280 y 320 ml. La pureza de las muestras se verificó realizando la relación 260/280, y sólo las muestras que presentan un valor superior a 2 se consideraron para nuestros estudios.

10 Para cada muestra, se sintetizaron los ADNc a partir de 250 ng de ARNm utilizando el kit iScript Reverse Transcription Supermix (Biorad) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se efectuaron los experimentos de PCR en tiempo real utilizando el kit Sso Fast EvaGreen Master Mix (BioRad), y los cebadores diseñados y optimizados por la Solicitante (Tabla 3).

Tabla 3

ARNm	Especie	Secuencias	nº de acceso
ABCA1	Bos taurus	F 5'-gtgtctcgctgttctcag-3' (SEQ ID No 1)	NM_001024693
		R 5'-gaaacatcacctctgccc-3' (SEQ ID No 2)	
ABCG1	Homo sapiens	F 5'-gaggaagaaaggatacaagacc-3' (SEQ ID No 3)	BC029158
		R 5'-gtcagtatctccttgaccattt-3' (SEQ ID No 4)	

La amplificación se realizó durante 40 ciclos con una temperatura de hibridación de 60°C, utilizando el thermocycler CFX96 de Biorad. Para cada par de cebadores, se verificó la especificidad de amplificación efectuando unas curvas de fusión, y se determinó la eficacia produciendo curvas de dilución. Los niveles de expresión medidos se normalizaron después sobre los niveles de expresión de la β-actina y la ciclofilina B utilizando el método de ΔΔCt. Cada experimento se realizó por triplicado y se repitió dos veces.

Los resultados obtenidos se presentan en las Figuras 3 y 4.

Resultados:

25 Los resultados muestran que, en respuesta a un tratamiento por una ciclodextrina, de manera general, la expresión de los receptores ABCA1 y ABCG1 por las células endoteliales disminuye en comparación con el control.

En particular, las MβCD-0,2 y MβCD-0,67 según la invención provocan una disminución inferior de la expresión de los receptores ABCA1 y ABCG1 en comparación con las βCD y MβCD-1,8.

30 Combinando estos resultados con los obtenidos anteriormente (punto A), los inventores han mostrado que las βCD y MβCD-1,8 no de acuerdo con la invención inducían un eflujo rápido e importante de colesterol, y una reacción más intensa de la célula disminuyendo fuertemente la expresión de receptores ABCA1 y ABCG1.

Por el contrario, las MβCD-0,2 y MβCD-0,67 según la invención, aunque inducen unos eflujos inferiores de colesterol, disminuyen claramente menos la expresión de los receptores ABCA1 y ABCG1.

35 La cinética de eflujo del colesterol de las ciclodextrinas metiladas de acuerdo con la invención es así totalmente diferente de la de las ciclodextrinas no de acuerdo con la invención. Los inventores postulan así que esta cinética particular de las ciclodextrinas metiladas de acuerdo con la invención presenta la ventaja de alterar menos la homeostasis del colesterol celular.

C. Estudio de la expresión del receptor SR-B1 (Receptor Scavenger clase B miembro 1 - "Scavenger Receptor class B member 1"), receptor de HDL, de células endoteliales tratadas con ciclodextrinas

40 En este ejemplo, la solicitante estudió el efecto de las ciclodextrinas sobre la expresión de un receptor de HDL, el receptor SR-B1, en función de su grado de metilación. Una de las funciones de los receptores SR-B1 a nivel del endotelio es promover el eflujo de colesterol libre hacia los HDL de la circulación.

La expresión del receptor SR-B1 se estudió según el protocolo como se ha descrito anteriormente, utilizando unos cebadores diseñados y optimizados por la solicitante (Tabla 4).

Tabla 4

ARNm	Especie	Secuencias	nº de acceso
SCARB1	Bos taurus	F 5'-cccttaatccacctcatcaatc-3' (SEQ ID No 5)	NM_174597
		R 5'-gaagttttgaccctgtgaac-3' (SEQ ID No 6)	

5 Cada experimento se realizó por triplicado y se repitió dos veces.

Los resultados obtenidos se presentan en la Figura 5.

Resultados:

La M β CD-0,67 según la invención provoca un fuerte aumento de la expresión del receptor SR-B1, de aproximadamente un 50% de la expresión basal.

10 En conclusión, los inventores han mostrado que las metil-ciclodextrinas según la presente invención presentaban una baja afinidad para el colesterol, limitaban la disminución de los transportadores responsables del eflujo de colesterol y aumentaba la expresión del receptor SR-B1 a HDL, teniendo esto el efecto de favorecer el transporte del colesterol citoplásmico hacia la sangre, y por lo tanto aumentar el nivel de colesterol plasmático, en particular el colesterol-HDL.

15 Por lo tanto, los inventores han demostrado que las metil-ciclodextrinas según la invención, a pesar de sus bajas afinidades para el colesterol, no necesitaban la adición de vesículas de fosfolípidos para ejercer sus efectos ilustrados por los resultados *in vivo* en el ejemplo 1 (Tablas 1 y 2).

Estos resultados refuerzan la ventaja de las metil-ciclodextrinas según la invención para un uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante aumento del nivel de colesterol-HDL.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> ROQUETTE FRERES

<120> COMPOSICIONES A BASE DE METIL-CICLODEXTRINAS PARA EL TRATAMIENTO Y/O LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES MEDIANTE EL AUMENTO DEL NIVEL DE COLESTEROL-HDL

5 <130> B1729PC00

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 19

10 <212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cebador

<400> 1

15 ggtctctgcc tgtctcag 19

<210> 2

<211> 19

<212> ADN

<213> secuencia artificial

20 <220>

<223> cebador

<400> 2

gaaacatcac ctctgccg 19

<210> 3

25 <211> 22

<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>

<223> cebador

30 <400> 3

gaggaagaaa ggatacaaga cc 22

<210> 4

<211> 22

<212> ADN

35 <213> secuencia artificial

<220>

<223> cebador

<400> 4
gtcagtatct ccttgacat tt 22
<210> 5
<211> 22
5 <212> ADN
<213> secuencia artificial
<220>
<223> cebador
<400> 5
10 cccttaatcc acctcatcaa tc 22
<210> 6
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial
15 <220>
<223> cebador
<400> 6
gaagttttg acccctgtga ac 22

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades susceptibles de tratarse y/o prevenirse mediante un aumento del nivel de colesterol-HDL.
- 5 2. Composición farmacéutica que comprende al menos una metil-ciclodextrina que presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,4 y 0,9, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la aterosclerosis o de complicaciones relacionadas con un ateroma.
- 10 3. Composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1 o 2, en el tratamiento y/o la prevención de las complicaciones relacionadas con un ateroma que comprenden la isquemia, preferentemente la isquemia del miocardio, las enfermedades coronarias, la angina de pecho, el síndrome coronario agudo, el infarto del miocardio, el infarto mesentérico, el accidente cerebrovascular, el aneurisma, o la arteriopatía de las extremidades inferiores, y sus consecuencias.
- 15 4. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que la metil-ciclodextrina presenta un grado de sustitución molar comprendido entre 0,6 y 0,8.
- 20 5. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que la metil-ciclodextrina es una metil- β -ciclodextrina.
- 25 6. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que la metil-ciclodextrina está sustituida en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa, o por los carbonos C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranososa, o por una combinación de los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6 de las unidades de glucopiranososa.
- 30 7. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que la composición de metil-ciclodextrinas comprende una o varias metil- β -ciclodextrinas seleccionadas del grupo que consiste en metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por los carbonos C3 y/o C6 de las unidades de glucopiranososa, metil- β -ciclodextrinas sustituidas en el hidroxilo portado por los carbonos C2, C3 y/o C6, preferentemente C2 y C6, de las unidades de glucopiranososa, y presentando dichas metil- β -ciclodextrinas un grado de sustitución molar comprendido entre 0,6 y 0,8.
- 35 8. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada por que la composición de metil-ciclodextrinas comprende al menos un 50, 60 o 75% de metilos sustituidos sobre el hidroxilo portado por el carbono C2 de las unidades de glucopiranososa.
- 40 9. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que la composición que comprende al menos una metil-ciclodextrina comprende también una ciclodextrina, en particular β -ciclodextrina, no sustituida y/o una ciclodextrina, en particular β -ciclodextrina, sustituida con unos grupos sulfobutiléter (SBE-) e hidroxipropilo (HP-), preferentemente con un grado de sustitución molar comprendido entre 0,05 y 1,5.
- 45 10. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende además al menos un agente activo suplementario, preferentemente un agente activo utilizado en el tratamiento de la aterosclerosis o en las complicaciones relacionadas con un ateroma, preferiblemente,
 - una estatina,
 - 50 - un agente antiagregante plaquetario o anticoagulante, preferentemente seleccionado entre la aspirina, el clopidrogel, los nuevos anticoagulantes orales tales como el dabigatrán, el apixabán, el rivaroxabán, y las antivitaminas K
 - un agente antihipertensivo, seleccionado preferentemente entre los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina tal como el perindopril, el captopril, el enalapril, el lisinopril o el ramipril, los antagonistas del receptor de la angiotensina II tal como el losartán, el valsartán, o el candesartán, y/o entre los beta-bloqueantes tales como el acebutolol, el labetalol, el nadolol, el oxprenolol, el penbutolol, el pindolol, o el propanolol,
 - o una combinación de estos.
- 55 11. Composición farmacéutica, para su uso según la reivindicación 10, caracterizada por que el agente activo suplementario es un antagonista del receptor de la angiotensina II, como el losartán, el valsartán, o el candesartán.

12. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada por que la composición es susceptible de administrarse mediante administración por vía oral, por vía parenteral, o por vía cutánea o mucosal.

5 13. Composición farmacéutica, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizada por que dicha composición está libre de vesículas de fosfolípidos.

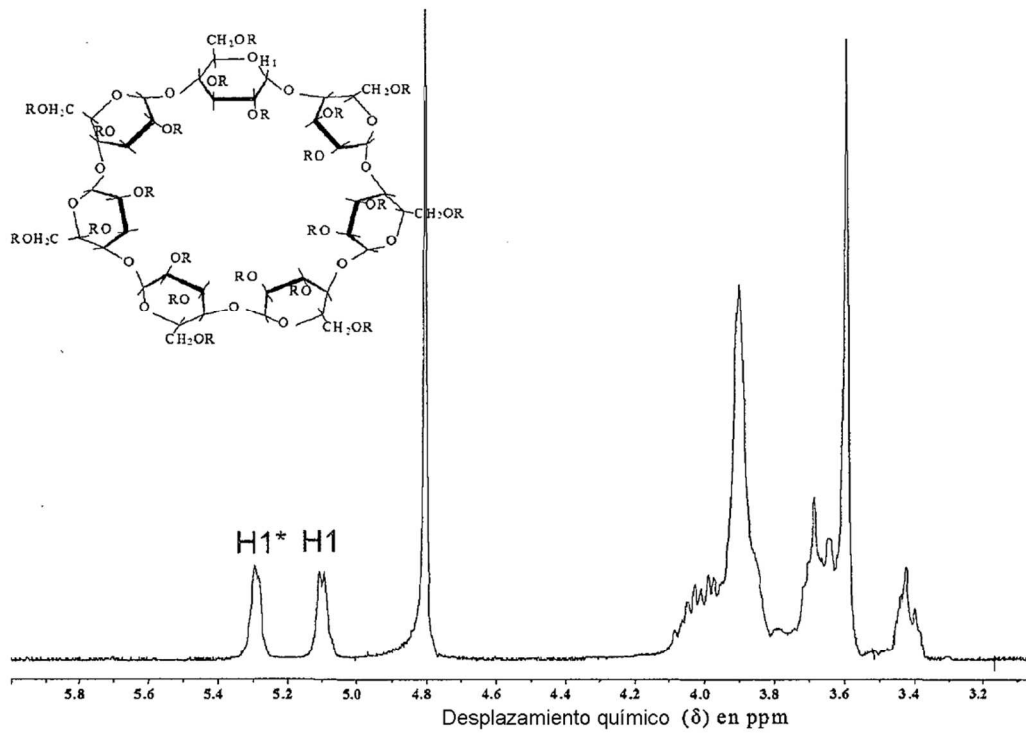


Figura 1

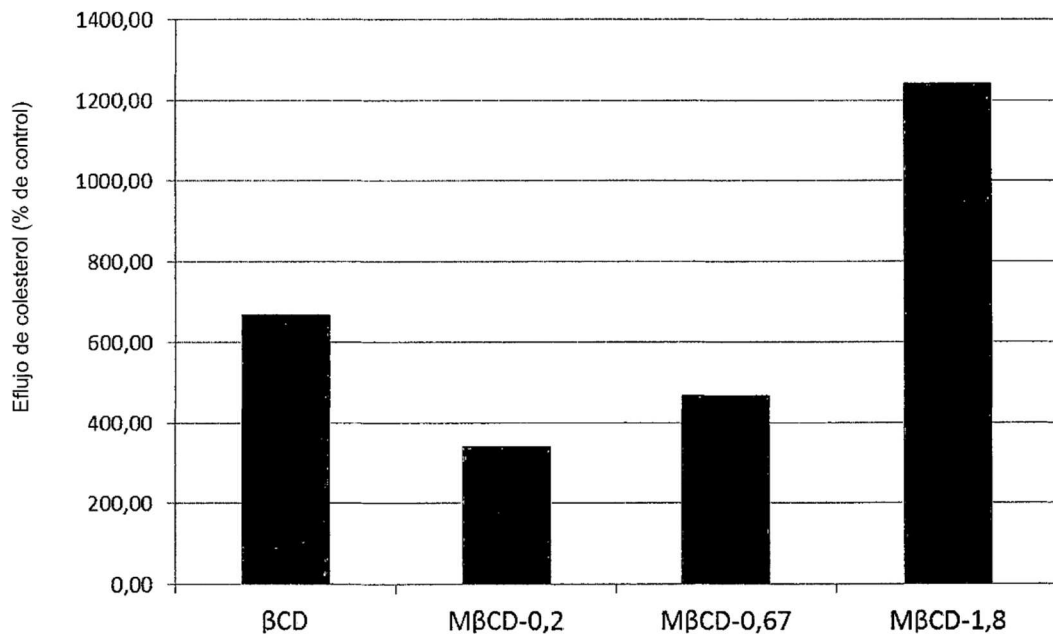


Figura 2

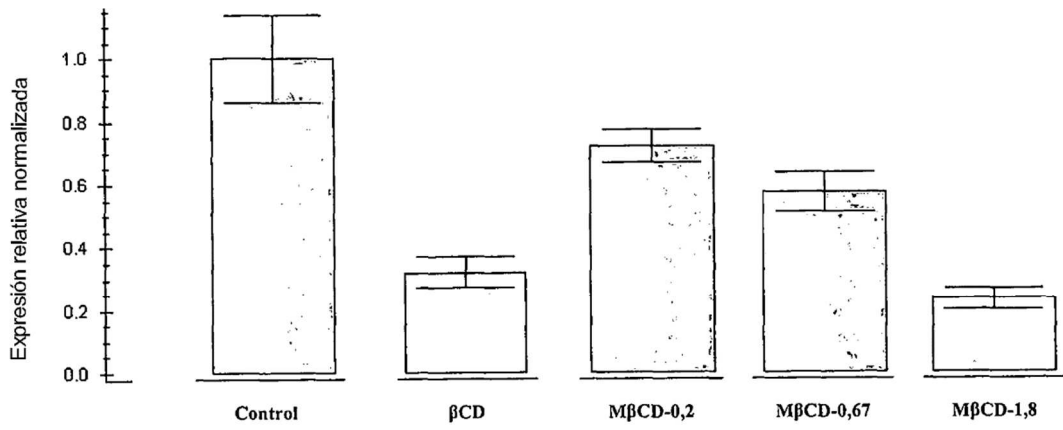


Figura 3

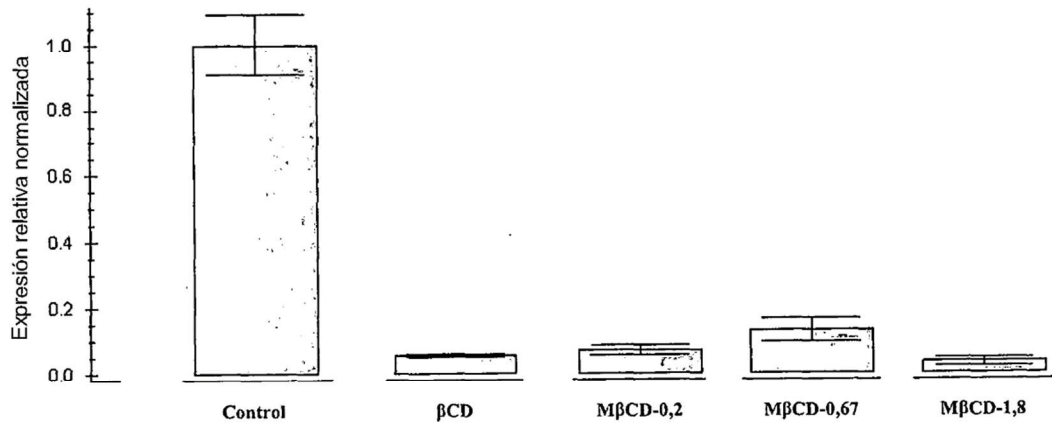


Figura 4

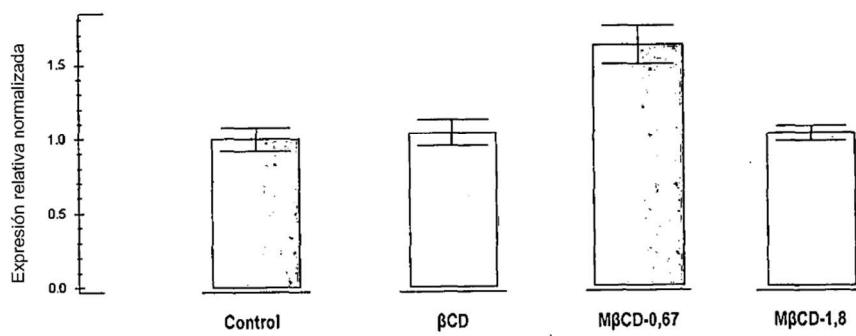


Figura 5