



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 189 891**

⑮ Int. Cl.:

A61K 31/19 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

A61P 3/02 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA

T5

⑯ Número de solicitud europea: **96939912 .0**

⑯ Fecha de presentación : **23.11.1996**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **0863754**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **16.09.1998**

⑭ Título: **Emulsiones de lípidos optimizadas para la hidrólisis y uso de las mismas.**

⑯ Prioridad: **28.11.1995 DE 195 44 310**

⑮ Titular/es: **B. BRAUN MELSUNGEN AG.**
Carl-Braun-Strasse 1
34212 Melsungen, DE

⑮ Fecha de publicación de la mención y de la traducción de patente europea: **16.07.2003**

⑯ Inventor/es: **Pscherer, German;**
Junginger, Marco;
Nehne, Jörg y
Carpentier, Yvon, A.

⑮ Fecha de la publicación de la mención de la patente europea modificada BOPI: **27.04.2010**

⑯ Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

⑮ Fecha de publicación de la traducción de patente europea modificada: **27.04.2010**

ES 2 189 891 T5

DESCRIPCIÓN

Emulsiones de lípidos optimizadas para la hidrólisis y uso de las mismas.

5 La presente invención se refiere a emulsiones de lípidos isotónicas optimizadas para la hidrólisis (emulsiones de grasas) para administración parenteral, en particular para alimentación parenteral, y a su uso en situaciones de respuesta inflamatoria exagerada (por ejemplo, después de cirugía, después de trauma, sepsis, enfermedades inflamatorias o debilitantes), o de mayor riesgo de trombosis vascular y arritmia cardiaca grave, donde es importante evitar causar una 10 acumulación de triglicéridos exógenos, al tiempo que se ponen ácidos grasos libres a disposición de diferentes tejidos del cuerpo tan rápido como sea posible.

Las emulsiones de lípidos para alimentación parenteral sirven para suministrar al cuerpo grasas en una forma de dosificación aceptable por vía intravenosa cuando la alimentación normal (vía oral) es imposible, arriesgada o está 15 médica mente contraindicada, o cuando es necesario modificar rápidamente el patrón de ácidos grasos de las células.

15 Las emulsiones de lípidos actualmente disponibles se preparan a partir de aceites vegetales (por ejemplo aceites de cártamo o de soja); en algunos casos también contienen triglicéridos de cadena media (TCM) y/o aceites de origen marino (aceites de pescado).

20 Los triglicéridos de cadena larga de origen vegetal o marino sirven como fuente de energía, y cuando contienen ácidos grasos poliinsaturados, como suministradores de ácidos grasos esenciales. La clasificación de dichos ácidos grasos poliinsaturados en los tipos de serie omega-6 y omega-3 se basa en características estructurales químicas, más 25 exactamente en la distancia del primer enlace insaturado desde el extremo metilo (extremo omega) de la molécula de ácido graso.

25 Los aceites vegetales, por ejemplo el aceite de soja y de cártamo, se caracterizan por un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega-6 (principalmente ácido linoleico, 18:2 n-6) mientras que su contenido en ácidos grasos omega-3 (casi exclusivamente en forma de ácido α -linoleico, 18:3 n-3) es bajo.

30 Los aceites de pescado obtenidos de peces de agua fría se caracterizan por un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados de la serie omega-3 (predominantemente ácido eicosapentanoico, EPA, 20:5 n-3, y ácido docosahexanoico, DHA, 22:6 n-3) mientras que su contenido en ácidos grasos omega-6 es bajo.

35 Los triglicéridos de cadena media administrados con las emulsiones de lípidos sirven principalmente como fuente de energía. Los triglicéridos de cadena media no contienen ácidos grasos insaturados y, por lo tanto, no contienen ácidos grasos esenciales omega-6 ni omega-3.

Numerosas observaciones clínicas subrayan la principal idoneidad de las emulsiones de lípidos para alimentación parenteral y para sustituir ácidos grasos esenciales en enfermedades graves y estados metabólicos implicados.

40 El cuerpo humano es incapaz por sí mismo de producir los ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados vitales de las series omega-6 u omega-3; es decir, éstos se deben administrar por vía oral, entérica o parenteral. El cuerpo sólo puede sintetizar ácidos grasos insaturados de cadena larga a partir de otros de cadena más corta; sin embargo, la formación de ácidos grasos omega-6 a partir de precursores de la serie omega-3 o viceversa es imposible.

45 Como consecuencia, se necesitan emulsiones de lípidos para administración parenteral que contengan triglicéridos de cadena media así como triglicéridos de ácidos grasos omega-6 y omega-3 como componentes lipídicos.

El documento EP-A-0 311 091 describe emulsiones de lípidos isotónicas para alimentación parenteral, que constan, 50 además de aditivos convencionales y agentes auxiliares, de ácidos grasos omega-3, ácidos grasos omega-3 en forma de sus ésteres o como componentes de aceites de pescado, triglicéridos de cadena media, así como opcionalmente de al menos un aceite vegetal que proporciona ácidos grasos omega-6 en una proporción de hasta 30%, basado en el contenido en lípidos de la emulsión.

55 El documento DE-OS-37 21 137 describe emulsiones de lípidos para alimentación parenteral que constan de triglicérido del ácido eicosapentanoico y/o triglicérido del ácido docosahexanoico, o aceites de pescado que contienen dichos triglicéridos, así como aceites vegetales que contienen ácidos grasos omega-6, y triglicéridos de cadena media.

60 El documento DE-OS-34 09 793 describe una emulsión de lípidos para transfusión que consta de un ácido graso que contiene de 20 a 22 átomos de carbono, sus ésteres, o una mezcla de 2 o más de dichos ácidos grasos o ésteres, así como de un aceite vegetal, un emulsionante y agua. Dichos ácidos grasos son ácidos grasos de ésteres de origen marino (aceites de pescado), en particular ácidos grasos omega-3. Dichos aceites vegetales son aceites de soja y/o cártamo purificados.

65 El documento US-A-5 444 054 se refiere a una mezcla de aceites en forma de una suspensión que contiene aceite de pescado en una cantidad de 25-80% en peso.

El documento CA-A-2.147.302 describe composiciones de lípidos que se pueden administrar por vía entérica o parenteral para limitar la respuesta dañina en pacientes que padecen trauma, quemaduras y/o sepsis. Generalmente se describe que las emulsiones de lípidos constan de <60% en peso de TCM (triglicéridos de cadena media), de 10 a 40% en peso de aceites vegetales y de 10 a 40% en peso de aceites de pescado. La emulsión descrita para administración parenteral contiene 25% en peso de TCM, 40% en peso de aceite vegetal y 35% en peso de aceite de pescado.

Con el fin de que los ácidos grasos libres exógenos estén disponibles para el cuerpo, deben ser liberados por hidrólisis de los triglicéridos infundidos mediante la enzima lipoproteína-lipasa (LPL), o ser absorbidos junto con partículas de emulsión o sus restos directamente en las células. Durante mucho tiempo se ha considerado que esta etapa inicial de hidrólisis de lípidos era la etapa determinante de la velocidad del metabolismo de los lípidos. Esta limitación surge de la actividad relativamente limitada de la lipoproteína-lipasa para escindir triglicéridos. Por lo tanto, la velocidad máxima de metabolismo de emulsiones de aceites vegetales es aproximadamente 3,8 g de lípido/kg de peso corporal por día (Hallberg *et al.*, *Acta Physiol. Scand.*, Vol. 65, Supl. 254 (1965), p. 2-23).

Durante la infusión de triglicéridos es conveniente lograr concentraciones de triglicéridos en el suero que sean lo más bajas posibles, por ejemplo que correspondan a una carga baja del sistema retículo-endotelial (RES) por lípidos exógenos.

Típicamente, los estados postoperatorio y postraumático así como episodios sépticos graves se caracterizan por una estimulación sustancial del sistema inmunitario. La respuesta inmunitaria implica la liberación de citoquinas (por ejemplo, factor de necrosis tumoral e interleuquinas) que, con altos niveles, pueden producir daño tisular grave. Además, altas concentraciones de citoquinas también pueden afectar a la hidrólisis por la LPL de los triglicéridos que circulan.

En dichos estados clínicos, es particularmente importante usar triglicéridos exógenos que sean hidrolizados y eliminados rápidamente, y que contengan ácidos grasos (por ejemplo, ácidos grasos omega-3) capaces de reducir la producción de citoquinas así como la toxicidad de las citoquinas en los tejidos.

Los ácidos grasos como un sustrato de energía (para propósitos de oxidación) y para la incorporación en membranas (para propósitos estructurales), y como precursores de ácidos eicosanoídes se debe hacer que estén disponibles para el cuerpo tan pronto como sea posible.

Los triglicéridos típicos de aceites de pescado son hidrolizados mucho más lentamente que los triglicéridos de aceites vegetales (por ejemplo, aceite de soja), que a su vez son hidrolizados más lentamente que los triglicéridos de cadena media. La adición de una emulsión de aceite de pescado a una emulsión de triglicéridos de cadena larga puede incluso inhibir la hidrólisis de triglicéridos de cadena larga (por ejemplo, de aceite de soja) por la LPL.

Por lo tanto, un objeto de la invención es proporcionar una emulsión de lípidos para alimentación parenteral que se pueda administrar por vía parenteral, que se haya optimizado con respecto a la hidrólisis y eliminación, lo cual significa que los triglicéridos suministrados con dicha emulsión de lípidos son hidrolizados en el cuerpo extra- o intracelularmente, es decir, son escindidos a ácidos grasos libres y glicerina, tan rápidamente como sea posible sin un aumento concomitante excesivo del nivel de ácidos grasos libres en el suero. Esto implica que se pueden administrar más lípidos al cuerpo por vía parenteral en el mismo periodo de tiempo, sin un aumento de la concentración de lípidos o concentración de productos de hidrólisis.

Este objeto se ha logrado con la emulsión de lípidos acuosa isotónica optimizada para la hidrólisis, para administración parenteral según se define en la reivindicación 1.

Sorprendentemente, se ha encontrado que el objeto de la invención se puede lograr combinando en la misma emulsión triglicéridos de cadena media en partículas, aceites vegetales ricos en ácidos grasos omega-6 y aceites vegetales que contienen ácidos grasos omega-3, en la proporción cuantitativa antes mencionada. En particular se ha encontrado que las mezclas de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado de la invención son hidrolizadas más rápidamente que las mezclas conocidas de TCM/aceite vegetal y las mezclas de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado de la técnica anterior. Por lo tanto, se evita la carga de triglicéridos en el cuerpo por los triglicéridos exógenos. Los ácidos grasos de cadena media y ácidos grasos esenciales de cadena larga están rápidamente disponibles en el cuerpo. Esto no implica un aumento significativo de la concentración de ácidos grasos libres en el suero, a pesar del hecho de que se suministran más lípidos al cuerpo por unidad de tiempo. Además, se puede observar la incorporación rápida de ácidos grasos omega-3 en los fosfolípidos de membranas de plaquetas y leucocitos.

Las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención incluyen mezclas de aceites (lípidos) emulsionadas más que mezclas de las emulsiones.

De acuerdo con la invención, se usan los triglicéridos de cadena media que tienen longitudes de cadena de ácido graso en el intervalo de C₆ a C₁₄, y que están compuestos de al menos 90% en peso de triglicéridos de ácido caprílico (C₈) y ácido cáprico (C₁₀). La fracción de triglicéridos de cadena media, basado en el contenido total de lípidos de la emulsión de lípidos es de 48% a 52% en peso.

ES 2 189 891 T5

Las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención contienen, además, al menos un aceite vegetal que contiene triglicéridos compuestos principalmente de ácidos grasos omega-6.

5 Aceites vegetales son el aceite de cártamo y/o aceite de soja, siendo el contenido de dichos aceites vegetales en la emulsión de lípidos de 38% a 42% en peso, basado en el contenido de lípidos de la emulsión de lípidos. Los aceites vegetales contienen triglicéridos de ácidos grasos que tienen longitudes de cadena de C₁₆ a C₂₀, y contienen principalmente triglicéridos de ácidos grasos omega-6.

10 Se sabe que los aceites de pescado contienen ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3) y ácido docosahexanoico (DHA, 22:6 n-3) incorporado en triglicéridos, llamados ácidos grasos omega-3 altamente insaturados, que son unidades estructurales esenciales que deben suministrarse al cuerpo, y que son biológicamente importantes, por ejemplo, como precursores de eicosanoides y como elementos estructurales de los lípidos de membrana. Además, a estos ácidos se les atribuyen acciones antitrombóticas y de disminución de lípidos. Puesto que su aislamiento de productos naturales y su síntesis química es cara, los aceites de pescado, que son relativamente baratos, son los suministradores elegidos de dichos ácidos grasos esenciales. Tal como se usa en la invención, la expresión "aceites de pescado" se pretende que comprenda aceites de pescado naturales, aceites de pescado procesados, o concentrados de aceite de pescado altamente purificado. De acuerdo con la invención, también se pueden usar aceites de pescado procesados, tal como se describe por ejemplo, en el documento EP-A-0 298 293 que se incorpora aquí como antecedente.

20 Aceites de pescado adecuados de ejemplo son aceites que se obtienen de peces de agua fría a una escala técnicamente significativa, o aceites que se obtienen sintéticamente por esterificación de ácidos grasos omega-3 (obtenidos de aceite de pescado de peces de agua fría, preferiblemente salmón, sardina, caballa, arenque, boquerón, eperlano y pez espada, por hidrólisis de los triglicéridos y posterior purificación y concentración de los ácidos grasos omega-3 resultantes) con glicerol. Los aceites de pescado generalmente contienen triglicéridos de ácidos grasos que tienen 25 longitudes de cadena de 12 a 22 átomos de carbono. Se prefieren particularmente concentrados de aceite de pescado altamente purificado que se obtienen, por ejemplo, de aceites de sardina, salmón, arenque y/o caballa. Tienen un contenido en ácido eicosapentanoico de 20 a 40%, preferiblemente al menos 25%, basado en los ésteres de metilo de los ácidos grasos del concentrado de aceite de pescado, determinado por cromatografía de gases (porcentaje por el área). Además, tienen un contenido en ácido docosahexanoico de 10 a 20%, preferiblemente al menos 12%, basado en los 30 ésteres de metilo de los ácidos grasos del concentrado de aceite de pescado, determinado por cromatografía de gases (porcentaje por el área). En el caso de los aceites de pescado que se pueden obtener sintéticamente por reesterificación de los ácidos grasos omega-3, la concentración total de ácido eicosapentanoico + docosahexanoico puede ser al menos 45% basado en los triglicéridos.

35 Se prefiere particularmente usar un aceite de pescado rico en EPA cuando hay que influir en procesos inflamatorios. Se prefiere aceite de pescado rico en DHA en pacientes pediátricos en el caso de deficiencia de ácido graso omega-3 para influir en el crecimiento y maduración del sistema nervioso central.

40 El contenido de aceite de pescado, basado en el contenido total de lípidos de la emulsión de lípidos, es de 10% a 14% en peso.

El contenido total de lípidos de la emulsión de lípidos es de 5% a 30%, preferiblemente de 10% a 25% en peso, basado en la emulsión de lípidos acuosa.

45 Además de agua destilada, la emulsión de lípidos isotónica contiene los agentes auxiliares y/o aditivos habituales, tales como emulsionantes, ayudantes de emulsión (co-emulsionantes), estabilizantes, antioxidantes y aditivos para que sea isotónica.

50 Como emulsionantes se usan emulsionantes fisiológicamente aceptables, tales como fosfolípidos de origen animal o vegetal. Se prefieren particularmente lecitinas purificadas, especialmente lecitina de soja, lecitina de huevo, o sus fracciones, o los fosfátidos correspondientes. El contenido en emulsionante es de 0,6% a 1,5%, preferiblemente 1,2% en peso, basado en la emulsión total.

55 Además, se pueden usar sales de metales alcalinos de ácidos grasos de cadena larga, de C₁₆ a C₂₀, como ayudantes de emulsión (co-emulsionantes). Se prefieren especialmente sus sales sódicas. Los co-emulsionantes se usan en concentraciones de 0,005% a 0,1%, preferiblemente de 0,02% a 0,04%, en peso, basado en la emulsión total. Además, se puede usar colesterol o un éster de colesterol solo o combinado con otros co-emulsionantes en una concentración de 0,005% a 0,1%, preferiblemente de 0,02% a 0,04% en peso.

60 La emulsión de lípidos de acuerdo con la invención puede contener vitamina E, en particular α -tocoferol y/o palmitato de ascorbilo como antioxidantes y, por lo tanto, para proteger de la formación de peróxido, en cantidades de 10 a 1000 mg, preferiblemente de 25 a 200 mg, basado en 100 g de lípidos.

65 Para estabilizarla y hacerla isotónica, la emulsión de acuerdo con la invención puede contener de 2% a 5% en peso de un aditivo estabilizante o para hacerla isotónica, por ejemplo un alcohol polihídrico. En relación con esto, se prefieren glicerol, sorbitol, xilitol o glucosa, siendo particularmente preferido el glicerol.

ES 2 189 891 T5

Las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención son invariablemente emulsiones de aceite en agua (ac/ag), en las que la fase continua, exterior, consta de agua destilada purificada para propósitos de administración parenteral. Dicha emulsión de ac/ag se obtiene mezclando TCM, aceite vegetal y aceite de pescado y posterior formación de emulsión. Después de esterilización, la emulsión de lípidos tiene un pH de 6,0 a 9,0, preferiblemente de 6,5 a 8,5.

5 Las emulsiones de lípidos isotónicas de acuerdo con la invención se pueden preparar por procedimientos conocidos, haciéndolas inertes. El enfoque habitual es primero mezclar los lípidos, emulsionante y otros agentes auxiliares y aditivos, y después completar con agua con formación de dispersión. El agua opcionalmente puede contener componentes adicionales solubles en agua (por ejemplo, glicerol). La emulsión, así obtenida, todavía contiene partículas de lípidos que tienen un diámetro de aproximadamente 10 μm . Después hay que reducir el tamaño medio de las gotas de la emulsión por homogeneización adicional, por ejemplo usando un homogeneizador de alta presión. Para aplicación parenteral, se prefieren tamaños medios de gotas de lípidos menores que 1,0 μm , en particular menores que 0,5 μm .

10 15 Las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención se usan para administración parenteral, en particular alimentación parenteral, de pacientes con respuestas inflamatorias exageradas o mayor riesgo de trombosis vascular o arritmia cardiaca grave. En particular, las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención se pueden usar con pacientes en estado postoperatorio y postraumático, o con enfermedades inflamatorias; además, por ejemplo, en metabolismo de postagresión persistente o grave después de operaciones, tales como operaciones abdominales o trasplantes de órganos, y politraumatismo, enfermedades inflamatorias, quemaduras, infecciones, sepsis manifiesta o inminente, función respiratoria dañada, estados de producción excesiva de citoquinas, enfermedades debilitantes, y mayor riesgo de arritmia cardiaca grave (por ejemplo, fibrilación ventricular) o trombosis vascular. La emulsión de lípidos de acuerdo con la invención, también se puede usar para alimentación parenteral después de estados de choque para mejorar la microperfusión y rendimiento metabólico de los órganos con poco suministro de sangre en términos de reanimación metabólica.

20 25

La invención se ilustrará con los siguientes ejemplos.

30

(Tabla pasa a página siguiente)

35

40

45

50

55

60

65

Ejemplos de preparación

La Tabla 1 muestra la composición de ácidos grasos (% aproximado) de diferentes aceites usados en las emulsiones de lípidos de los siguientes ejemplos:

5

TABLA 1

Ácido graso	Aceite de TCM ¹⁾	Aceite de soja ²⁾	Aceite de cártamo ³⁾	Aceite de pescado ⁴⁾
6:0	< 2	---	---	---
8:0	64	---	---	---
10:0	34	---	---	---
12:0	< 3	---	---	< 1
14:0	< 1	---	---	5
16:0	---	11	7	10
16:1	---	---	---	7
16:2	---	---	---	1
16:3	---	---	---	1
16:4	---	---	---	3
18:0	---	4	3	1
18:1	---	22	14	10
18:2 n-6	---	55	75	2
18:3 n-3	---	8	< 1	1
18:4 n-3	---	---	---	4
20:0	---	< 1	< 1	---
20:1	---	< 1	< 1	2
20:4 n-6	---	---	---	2
20:5 n-3	---	---	---	28
22:1	---	---	---	1
22:4	---	---	---	< 1
22:5	---	---	---	3
22:6 n-3	---	---	---	13
Σ n-6	---	55	75	4
Σ n-3	---	8	< 1	46
n-6:n-3	--	7:1	$\geq 75:1$	1:12

¹⁾ triglicéridos de cadena media, por ejemplo, Captex 355, producto comercial de Karlshamns.

60 ²⁾ aceite de soja, por ejemplo Sojaöl, producto comercial de Croda.

³⁾ aceite de cártamo, por ejemplo Safloröl, producto comercial de Gustav Heess.

65 ⁴⁾ aceite de pescado altamente purificado, por ejemplo, Sanomega S28GA, producto comercial de Nippon Oil and Fats.

ES 2 189 891 T5

La mezcla I que contiene TCM, aceite vegetal, aceite de pescado, emulsionante (fosfolípidos fraccionados de yema de huevo de pollo) se dispersa mediante un dispositivo Ultra-Turrax y se afora con el componente II acuoso con agitación. El valor del pH se ajusta de pH 8,0 a 9,0, usando una solución acuosa de hidróxido sódico y/u oleato sódico. La homogeneización posterior se lleva a cabo en un homogeneizador de alta presión a 400 kg/cm².
 5 Despues de dispensar en botellas de vidrio de calidad adecuada, se lleva a cabo la esterilización térmica por métodos conocidos.

10

TABLA 2

15	Ejemplo de preparación	1 (ejemplo comparativo 1*)	2	3	4	5 (ejemplo comparativo 2**)
20	I.	triglicéridos de cadena media de síntesis parcial	1000 g	500 g	1000 g	1000 g
25		aceite de cártamo purificado	-	-	800 g	-
30		aceite de soja purificado	1000 g	400 g	-	800 g
35		aceite de pescado altamente purificado	-	100 g	200 g	200 g
40		acetato de colesterol	-	-	2 g	-
45		fosfolípidos purificados de:	120 g huevo	90 g huevo	120 g huevo	120 g huevo
50		α-tocoferol	2000 mg	1000 mg	2000 mg	2000 mg
55		palmitato de ascorbilo	1500 mg	-	1000 mg	1500 mg
60	II.	oleato sódico	3,0 g	2,5 g	-	3,0 g
65		glicerol	250 g	250 g	250 g	250 g
70		NaOH	-	-	hasta pH 8,0-9,0	-
75		agua para inyección	hasta 10 litros	hasta 10 litros	hasta 10 litros	hasta 10 litros

* TCM/aceite vegetal (50:50)

** TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20) de acuerdo con el documento EP-A-0 311 091

Resultó una emulsión estable sin pirógenos y estéril, que contenía gotas de lípidos que tenían un tamaño medio menor que 0,5 μm con un periodo de caducidad a temperatura ambiente de al menos 18 meses.

60

65

ES 2 189 891 T5

Ejemplo 1

In vivo

5 1. Determinación de la hidrólisis de triglicéridos

Se administró por infusión a ocho sujetos hombres (edad 23 ± 3 años (media \pm d. típica)) una emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal (50:50) a lo largo de 5 h cada uno, en 4 días consecutivos (tratamiento A, tabla 3; ejemplo de preparación 1 en la tabla 2). Después de un intervalo de cuatro semanas, se administró por infusión una emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) en las mismas condiciones (tratamiento B, tabla 4; ejemplo preparativo 4 en la tabla 2). Después de otro intervalo de al menos ocho semanas, se administró por infusión una emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20) en las mismas condiciones (tratamiento C, tabla 5; ejemplo de preparación 5 en la tabla 2). Se determinó como sigue la hidrólisis de triglicéridos en el suero (medido como la velocidad de infusión media en mg de lípidos/kg de peso corporal/h en condiciones de pinza de triglicéridos con una concentración en el suero de 3,0 mmol/l de la 3^a a la 5^a horas de infusión, 9 medidas por sujeto y por día; análisis de varianza):

20

TABLA 3

Tratamiento A (Ejemplo comparativo 1)

25

Velocidad de infusión media (de 3^a a 5^a horas) con una emulsión de TCM/aceite vegetal (50:50)
[mg de lípidos/kg de peso corporal/h]

30

Sujeto	Día 1	Día 2	Día 3
1.	171	155	180
2.	98	103	101
3.	142	161	122
4.	180	175	166
5.	182	223	243
6.	203	259	269
7.	129	129	143
8.	188	221	170
media \pm d. típica	162 \pm 35	178 \pm 53	174 \pm 57

50

55

60

65

ES 2 189 891 T5

TABLA 4

Tratamiento B (De acuerdo con la invención)

Velocidad de infusión media (de 3^a a 5^a horas) con una emulsión de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) [mg de lípidos/kg de peso corporal/h]

Sujeto	Día 1	Día 2	Día 3
1.	224	236	203
2.	201	134	163
3.	186	199	182
4.	190	201	179
5.	255	278	273
6.	259	272	271
7.	147	154	142
8.	176	182	181
media ± d. típica	205 ± 39	207 ± 52	199 ± 48

TABLA 5

Tratamiento C (Ejemplo comparativo 2)

Velocidad de infusión media (de 3^a a 5^a horas) con una emulsión de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20) [mg de lípidos/kg de peso corporal/h]

Sujeto	Día 1	Día 2	Día 3
1.	202	192	186
2.	133	122	120
3.	147	148	174
4.	228	211	204
5.	233	241	231
6.	168	250	259
7.	147	189	161
8.	174	177	188
media ± d. típica	179 ± 36	191 ± 41	190 ± 40

ES 2 189 891 T5

La hidrólisis de triglicéridos con el tratamiento B de acuerdo con la invención era significativamente mayor que la del tratamiento A ($p < 0,0001$) y C ($p < 0,05$) para todos los días de tratamiento. Por lo tanto, la velocidad de infusión media a lo largo de tres días era 4,9 g de triglicéridos/kg de peso corporal/día para la emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10), y 4,1 y 4,5 g de triglicéridos/kg de peso corporal/día, para las emulsiones de lípidos de TCM/aceite vegetal (50:50) y TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20), respectivamente. Las emulsiones de lípidos de composición de acuerdo con los ejemplos de preparación 2 y 3 dan resultados similares. El resultado de una hidrólisis más rápida de las emulsiones de lípidos de acuerdo con la invención para dar ácidos grasos libres comparado con las emulsiones de lípidos convencionales de la técnica anterior, también se puede confirmar por estudios *in vitro* (véase, ejemplo 2).

10

2. Determinación del nivel de ácidos grasos libres en el suero

El nivel de ácidos grasos libres en el suero de los sujetos se determinó los días del tratamiento antes (0 h) e inmediatamente después (5 h) de administrar la emulsión de lípidos. Un ensayo adecuado para este propósito es, por ejemplo, el ensayo NEFAC (un método colorimétrico enzimático *in vitro*) de Wako Chemicals GmbH, Alemania.

20 Se encontró que cuando se administra la emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) de acuerdo con la invención, las concentraciones de ácidos grasos libres en el suero no aumentan a valores marcadamente mayores comparado con la administración de una emulsión de lípidos comercial de TCM/aceite vegetal (50:50) y otra emulsión de lípidos de TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20), aunque se han suministrado más lípidos al cuerpo por unidad de tiempo. Los resultados experimentales se dan a continuación en las tablas 6 y 7:

TABLA 6

25

Tratamiento A (Ejemplo comparativo 1)

Ácidos grasos libres en el suero [$\mu\text{mol/l}$], TCM/aceite vegetal (50:50)

30

Sujeto	después de	Día 1	Día 2	Día 3
1.	0 h	0	22	39
	5 h	921	921	1068
2.	0 h	399	202	143
	5 h	996	742	762
3.	0 h	57	48	48
	5 h	1554	144	1408
4.	0 h	52	71	44
	5 h	1212	1173	979
5.	0 h	20	23	10
	5 h	903	1272	1405
6.	0 h	28	41	82
	5 h	1082	1271	1449
7.	0 h	97	90	122
	5 h	1068	949	1169
8.	0 h	27	47	34
	5 h	1219	1236	1140
media \pm d. típica		85 \pm 122	68 \pm 55	65 \pm 43
		1119 \pm 198	1126 \pm 218	1173 \pm 225

ES 2 189 891 T5

TABLA 7

Tratamiento B (de acuerdo con la invención)

5 Ácidos grasos libres en el suero [$\mu\text{mol/l}$], TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10)

Sujeto	después de	Día 1	Día 2	Día 3
1.	0 h	18	0	28
	5 h	1321	1421	1102
2.	0 h	298	254	431
	5 h	1252	1101	1038
3.	0 h	7	14	26
	5 h	1363	1286	1239
4.	0 h	25	8	7
	5 h	1179	1197	1095
5.	0 h	0	11	30
	5 h	1165	1502	1381
6.	0 h	4	0	19
	5 h	1556	1295	1417
7.	0 h	70	88	75
	5 h	1053	983	963
8.	0 h	0	12	0
	5 h	1421	941	1012
media \pm d. típica		53 \pm 95	48 \pm 82	77 \pm 135
		1289 \pm 150	1216 \pm 187	1156 \pm 160

50

55

60

65

ES 2 189 891 T5

TABLA 8
Tratamiento C (Ejemplo comparativo 2)

Ácidos grasos libres en el suero [$\mu\text{mol/l}$], TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20)

Sujeto	después de	Día 1	Día 2	Día 3
1.	0 h	13	12	0
	5 h	1051	828	863
2.	0 h	271	67	82
	5 h	900	816	899
3.	0 h	0	20	1
	5 h	1010	941	1006
4.	0 h	32	136	128
	5 h	1175	1269	1229
5.	0 h	0	10	0
	5 h	1139	1159	1024
6.	0 h	15	34	21
	5 h	887	1252	1239
7.	0 h	180	283	177
	5 h	1340	1335	1135
8.	0 h	0	0	0
	5 h	873	811	852
media \pm d. típica		64 \pm 97	70 \pm 90	51 \pm 65
		5 h	1047 \pm 154	1051 \pm 211
				1031 \pm 146

3. Determinación de ácido eicosapentanoico (EPA, 20:5 n-3)

Incorporación en fosfolípidos de membrana de plaquetas (trombocitos) y leucocitos.

La determinación de la proporción de ácido eicosapentanoico en los fosfolípidos de membrana de los trombocitos y leucocitos de ocho sujetos, se llevó a cabo por cromatografía de gases de los ésteres de metilo de los ácidos grasos (porcentaje por el método del área).

TABLA 9
Tratamiento B (de acuerdo con la invención)

Ácido eicosapentenoico en trombocitos y leucocitos, TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10)

	Día 1 (0 h)	Día 2 (0 h)	Día 3 (0 h)
EPA en trombocitos	0,2 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1	1,2 \pm 0,1
Media \pm d. típica (% por área)			
EPA en leucocitos	0,4 \pm 0,1	0,7 \pm 0,3	1,0 \pm 0,3
Media \pm d. típica (% por área)			

TABLA 10
Tratamiento C (Ejemplo comparativo 2)

5 *Ácido eicosapentanoico en trombocitos y leucocitos, TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20)*

		Día 1 (0 h)	Día 2 (0 h)	Día 3 (0 h)
10	EPA en trombocitos	$0,4 \pm 0,1$	$1,0 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,1$
15	Media ± d. típica (% por área)			
	EPA en leucocitos	$0,4 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,3$
	Media ± d. típica (% por área)			

20 Una comparación de los resultados de la tabla 9 con los de la tabla 10 muestra que en el tratamiento C, por ejemplo, se encontró un contenido de EPA de 0,9% por el área, en leucocitos el día 2. Siendo el contenido de aceite de pescado en el tratamiento B de acuerdo con la invención sólo la mitad de alto, se esperaría un contenido de EPA de 0,45% por el área. Sin embargo, sorprendentemente, se encontró un valor significativamente mayor, concretamente 0,7% por el área. Se obtiene un resultado similar para el día 3, así como para los trombocitos los días 2 y 3.

25

Ejemplo 2

In vitro

30 *Absorción de apoproteína en las partículas de emulsión*

35 Es muy interesante el enriquecimiento significativamente menor (ensayo t, de dos colas) de apoproteína C-I ($p > 0,0001$) y apoproteína C-III ($p < 0,0001$), que son ambas apoproteínas que inhiben tanto la hidrólisis de triglicéridos como la absorción directa de las partículas de emulsión en el tejido diana (tal como el hígado), y en las partículas de emulsión que tienen una composición de acuerdo con la invención (ejemplo de preparación 4) es de suponer que dará como resultado una depuración de lípidos intravascular más minuciosa que con la otra emulsión de lípidos examinada (preparación del ejemplo 5).

40

TABLA 11

45 *Absorción de apoproteínas C-I y C-III en las partículas de emulsión (incubación: 3 h), TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) frente a TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20)*

	TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) (Ejemplo de preparación 4)	TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20) (Ejemplo de preparación 5)	
50			
55	Absorción de Apo C-I [μ g] Media ± d. típica	$5,1 \pm 0,51$ (n = 4)	$23,4 \pm 1,43$ (n = 4)
60	Absorción de Apo C-III [μ g] Media ± d. típica	$30,1 \pm 2,67$ (n = 4)	$54,7 \pm 4,00$ (n = 4)

65

ES 2 189 891 T5

Las emulsiones de lípidos para administración parenteral interactuarán con lipoproteínas endógenas. Durante la infusión, la emulsión suministrada de forma exógena se funde parcialmente con la LDL (lipoproteína de baja densidad; $d < 1,006 \text{ g/ml}$) endógena, una lipoproteína con un alto contenido en apoproteína B (apo B). Por lo tanto, el enriquecimiento de apo B en las partículas de emulsión fusionadas indica la extensión de la fusión de la emulsión

5 suministrada de forma exógena con la LDL endógena que tiene una semivida en el plasma relativamente larga. Por lo tanto, un alto contenido en apo B en las partículas de emulsión fundidas se debe considerar un indicio de un tiempo de permanencia prolongado de los lípidos administrados por infusión. A la inversa, un bajo contenido en apo B significa una semivida corta en el plasma, correspondiente a un tiempo de permanencia reducido en el plasma.

10 Se incubaron dos emulsiones de lípidos de acuerdo con los ejemplos de preparación 4 y 5 con LDL humana en plasma pobre en lipoproteínas a 37°C durante 4 horas, seguido de una determinación del contenido en apoproteína B en la fracción de emulsión.

15

TABLA 12

Contenido en apoproteína B en las partículas de emulsión, TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) frente a TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20)

20

	TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:40:10) (Ejemplo de preparación 4)	TCM/aceite vegetal/aceite de pescado (50:30:20) (Ejemplo de preparación 5)
Contenido en Apo B [mg/dl]	$0,05 \pm 0,05$ (n = 6)	$0,27 \pm 0,21$ (n = 4)
Media \pm d. típica		

25 35 Las partículas de la emulsión que tienen una composición de acuerdo con la invención muestran un enriquecimiento de apo B que es más de cinco veces menor que el de la otra emulsión de lípidos examinada, que corresponde a una velocidad de hidrólisis mayor. La diferencia es significativa (ensayo t, de dos colas; $p < 0,05$).

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Una emulsión de lípidos isotónica para administración parenteral que tiene un tamaño medio de gotas de lípido menor que $1,0 \mu\text{m}$, que comprende triglicéridos de cadena media, al menos un aceite vegetal que comprende triglicéridos que suministran ácidos grasos omega-6, en donde dicho aceite vegetal se selecciona de aceite de girasol y/o aceite de soja, al menos un aceite de pescado que comprende triglicéridos que suministran ácidos grasos omega-3, y agentes auxiliares y/o aditivos convencionales, **caracterizada** porque la emulsión de lípidos, basado en el contenido total de lípidos de la emulsión de lípidos, comprende:

10 - de 48% a 52% en peso de triglicéridos de cadena media;

- de 38% a 42% en peso de aceite(s) vegetal(es);

15 - de 10% a 14% en peso de aceite(s) de pescado.

20 2. La emulsión de lípidos de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada** porque dichos triglicéridos de cadena media están constituidos por al menos 90% de triglicéridos de ácido caprílico (C_8) y ácido cáprico (C_{10}).

25 3. La emulsión de lípidos de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, **caracterizada** porque dicho aceite de pescado se selecciona de aceites de sardina, salmón, arenque, caballa y/u otros peces de agua fría o de aceites de pescado que se pueden obtener sintéticamente por re-esterificación de glicerol con ácidos grasos omega-3 obtenidos por hidrólisis de aceite de pescado de peces de agua fría.

30 4. La emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque dicho aceite de pescado contiene al menos 25% de ácido eicosapentanoico en dichos triglicéridos, basado en los ésteres de metilo de los ácidos grasos del concentrado de aceite de pescado.

5. La emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizada** porque dicho aceite de pescado contiene al menos 12% de ácido docosahexanoico en dichos triglicéridos, basado en los ésteres de metilo de los ácidos grasos del concentrado de aceite de pescado.

35 6. La emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada** porque el contenido total de lípidos es de 5% a 30% en peso, basado en la emulsión.

7. Uso de la emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 6, para preparar una emulsión para alimentación parenteral.

40 8. Uso de la emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 6, para preparar un medicamento para tratar reacciones inflamatorias exageradas, mayor riesgo de trombosis vascular o arritmia cardiaca grave, por administración parenteral.

45 9. Uso de la emulsión de lípidos de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 1 a 6, para preparar un medicamento para tratar estados postoperatorios o postraumáticos o enfermedades inflamatorias, por administración parenteral.

50

55

60

65