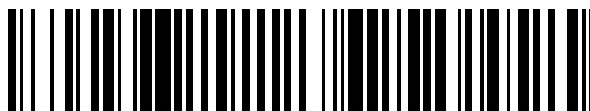


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 754**

51 Int. Cl.:

A61K 38/17 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 3/14 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 21/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.03.2009 E 09720761 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012 EP 2262525**

54 Título: **Composiciones que contienen apoacuerina y métodos de utilización de las mismas**

30 Prioridad:

11.03.2008 US 35443

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

24.04.2013

73 Titular/es:

QUINCY BIOSCIENCE, LLC (100.0%)
455 Science Drive Suite 120
Madison WI 53711, US

72 Inventor/es:

UNDERWOOD, MARK, Y.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 401 754 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 que contienen apoacurina y métodos de utilización de las mismas.

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere de manera general a composiciones que resultan útiles para el mantenimiento de la homeostasis del calcio. En particular, la presente invención se refiere a composiciones que contienen apoacurina que resultan útiles en la prevención y/o alivio de enfermedades o síntomas asociados al desequilibrio del calcio.

Antecedentes de la invención

- 10 El calcio es el quinto elemento más abundante en el cuerpo humano y se encuentra principalmente en el hueso. Más del 99% del calcio corporal se almacena en el esqueleto, que intercambia constantemente su suministro con el 1% restante que está disuelto en líquidos corporales y tejidos blandos, tal como la sangre. El control de este intercambio está dictado en gran medida por el sistema endocrino, que detecta la concentración de calcio ionizado en el plasma y dirige el intercambio de calcio para mantener su equilibrio crítico. Sólo una fracción reducida del 1% de calcio en los líquidos intersticiales y tejidos blandos está ionizado y es soluble. El calcio restante en líquidos y tejidos se encuentra unido a proteínas, particularmente proteínas de unión a calcio (PUCa). Es conocido que las PUCa actúan en el mantenimiento de la homeostasis del calcio.

- 15 Debido a que el cuerpo requiere concentraciones específicas de iones calcio para llevar a cabo los necesarios procesos fisiológicos, el mantenimiento de la homeostasis del calcio resulta de importancia crítica para la salud corporal. La comunidad médica entiende que las concentraciones correctas de calcio iónico en plasma y líquidos corporales, incluyendo la excitabilidad neuronal, la contracción muscular, la permeabilidad membranal, la división celular, la secreción hormonal y la mineralización ósea. Una alteración de la homeostasis del calcio, es decir, un desequilibrio del calcio, se asocia a muchas enfermedades, síndromes y condiciones, incluyendo el cáncer, las enfermedades cardíacas y las enfermedades neurodegenerativas.

- 20 En el pasado, los antagonistas de los canales del calcio, los cuales bloquean el flujo del calcio entre el interior de la célula y el líquido intersticial, han sido prescritos ampliamente como agentes farmacéuticos útiles en la prevención de los trastornos relacionados con el calcio, incluyendo la hipertensión, la angina, el asma, las migrañas y el deterioro neural. Por ejemplo, se ha encontrado que la nimidopina mejora la sintomatología clínica y las funciones cognitivas en la demencia mediante el alivio de un desequilibrio del calcio que provoca el deterioro neural. Sin embargo, muchos de estos antagonistas de los canales del calcio presentan efectos secundarios no deseados, incluyendo malestar, retención de líquidos, acidez estomacal, tasa cardíaca errática, mareo, trastornos digestivos y, en casos raros, desmayos, fiebre y sangrado excesivo.

- 25 A pesar de dichos avances, todavía existe una necesidad de terapéuticas nuevas y alternativas que alivien o prevengan el desequilibrio del calcio. En particular, se desean composiciones farmacéuticas o nutracéuticas que presenten menos efectos secundarios que los agentes anteriores y, si se descubriesen, satisfarían una necesidad antigua en las comunidades médica y de la salud nutricional. La solicitud de patente WO n° 2006/010004A describe una composición para prevenir o aliviar un trastorno asociado al desequilibrio del calcio, que comprende una cantidad efectiva de acurina.

Descripción resumida de la invención

- 30 El alcance de la invención está definido por las reivindicaciones. La presente exposición proporciona composiciones que resultan ventajosas en el alivio y/o prevención de trastornos asociados al desequilibrio del calcio. Entre dichas composiciones se incluyen la apoacurina en combinación con portadores aceptables para la administración en un sujeto mediante una diversidad de vías.

En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto para la utilización en un método para tratar un trastorno asociado al desequilibrio del calcio, que comprende administrar en un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad efectiva de apoacurina.

- 35 Un compuesto para la utilización en métodos según la invención resulta útil para tratar una amplia diversidad de síntomas o trastornos asociados al desequilibrio del calcio, incluyendo la calidad del sueño, la calidad energética, la calidad del humor, el dolor, la calidad de la memoria. En determinadas realizaciones, el desequilibrio del calcio se relaciona fisiológicamente con la excitabilidad neuronal, la contracción muscular, la permeabilidad membranal, la división celular, la secreción hormonal, la mineralización ósea o la muerte celular tras isquemia.

- 40 En todavía otra realización, la invención comprende la utilización de apoacurina para la preparación de una composición nutracéutica para el tratamiento de un trastorno asociado al desequilibrio del calcio en un sujeto en el que se ha administrado la composición nutracéutica. Entre los trastornos ejemplares tratados con dichas composiciones se incluyen aquellos asociados con el sueño, la energía, el humor, el dolor o la memoria.

De acuerdo con lo anteriormente expuesto, la presente invención contempla además apoacuorina para la utilización en el tratamiento de un trastorno asociado al desequilibrio del calcio en un sujeto, incluyendo aquellos trastornos asociados al sueño, energía, humor, dolor o memoria en un sujeto. La presente exposición proporciona diversas ventajas respecto a las composiciones y métodos anteriores, en el aspecto de que proporciona una mejora general de la salud mental y física del sujeto.

Otros objetivos, características y ventajas de la presente invención resultarán evidentes tras la lectura de la memoria y las reivindicaciones.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 proporciona un gráfico que muestra el porcentaje de cambio respecto a la línea base de puntuaciones en las áreas de: calidad global del sueño, energía, humor, dolor y salud general frente a los días 0 a 90.

La figura 2 ilustra un gráfico que muestra datos de 56 pacientes que ingirieron apoacuorina (10 mg) diariamente. Los participantes fueron evaluados entre los ocho días y los 30 días. El estudio de la memoria muestra una mejora estadísticamente significativa de la memoria tras 30 días ($p < 0,05$). 57% de los participantes mostraron una mejora de la memoria general; 51% en la retención de información; 84% en recordar las indicaciones para llegar en coche y 66% en la evocación de palabras. N=56; 66% mujeres, 34% hombres; edad media=56 años; intervalo de 20 a 78 años.

La figura 3 proporciona un gráfico que muestra el porcentaje de cambio respecto a la línea base de puntuaciones de un cuestionario cognitivo de batería de preguntas estandarizado frente a los días 0 a 90.

Descripción detallada de la invención

I. En general

Antes de describir los presentes materiales y métodos, se entiende que la terminología utilizada en la presente memoria es meramente descriptiva.

Debe indicarse que, tal como se utiliza en la presente memoria, y en las reivindicaciones adjuntas, las formas del singular "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Además, los términos "un" (o "una"), "uno o más" y "por lo menos uno", pueden utilizarse intercambiamente en la presente memoria. También se indica que las expresiones "que comprende", "que incluye" y "que presenta" pueden utilizarse intercambiamente.

II. La invención

La acuorina es una fotoproteína aislada originariamente de medusas luminiscentes y de otros organismos marinos. El complejo de la acuorina comprende una proteína apoacuorina de 22.285 daltons, oxígeno molecular y el luminóforo celenterazina. En el caso de que tres iones Ca^{2+} se unan a este complejo, la celenterazina se oxida formando celentermida, con liberación concomitante de dióxido de carbono y luz azul. La acuorina no es exportada o secretada por las células, ni es compartimentalizada o secuestrada dentro de las células. De acuerdo con lo anteriormente expuesto, se han utilizado mediciones de acuorina para detectar los cambios de Ca^{2+} que se producen durante periodos relativamente largos. En varios sistemas experimentales, la luminiscencia de la acuorina era detectable muchas horas a días después de la carga celular. Es conocido además que la acuorina tampoco altera las funciones celulares o el desarrollo embrionario.

Debido a su luminiscencia dependiente de Ca^{2+} , el complejo de acuorina ha sido utilizado extensivamente como indicador del Ca^{2+} intracelular. La acuorina de *Aequorea victoria* se ha utilizado específicamente para: (1) analizar la respuesta de secreción de células cromafines adrenales individuales frente a agonistas colinérgicos nicotínicos, (2) clarificar el papel de la liberación del Ca^{2+} en el daño al músculo cardíaco, (3) demostrar la masiva liberación de Ca^{2+} durante la fertilización, (4) estudiar la regulación de la expresión de la bomba de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico en mioblastos de pollo en desarrollo, y (5) calibrar micropipetas con volúmenes de inyección de tan sólo tres picolitros.

La apoacuorina presenta un peso molecular aproximado de 22 kDa. La apoacuorina puede utilizarse para regenerar la acuorina mediante reducción del enlace disulfuro en la apoacuorina. La apoacuorina cargada de calcio conserva los mismos andamiaje compacto y patrón de plegamiento global que las fotoproteínas no reaccionadas que contienen un sustrato unido.

La purificación convencional de la acuorina a partir de la medusa *Aequorea victoria* requiere procedimientos laboriosos de extracción y en ocasiones rinde preparaciones que son sustancialmente heterogéneas o que resultan tóxicos para los organismos estudiados. Dos toneladas de medusas típicamente rinden aproximadamente 125 mg de la fotoproteína purificada. En contraste, la acuorina recombinante preferentemente se produce mediante purificación de apoacuorina a partir de *Escherichia coli* genéticamente manipuladas, seguido de la reconstitución del complejo de la acuorina *in vitro* con celenterazina pura. La apoacuorina que resulta útil en la presente invención ha sido descrita y es comercialmente obtenible mediante esquemas de purificación y/o síntesis conocidos por el experto

en la materia. (S. Inouye, S. Zenno, Y. Sakaki y F. Tsuji, High level expression and purification of apoaequorin, Protein Expression and Purification 2:122-126, 1991).

La presente invención se refiere a la administración de composiciones que contienen apoacuorina en un sujeto con el fin de corregir o mantener el equilibrio del calcio en el sujeto. El mantenimiento de las concentraciones iónicas de calcio en el plasma y en líquidos corporales se entiende que resulta crítico para una amplia diversidad de funciones corporales, incluyendo la excitabilidad neuronal, la contracción muscular, la permeabilidad membranar, la división celular, la secreción hormonal, la mineralización ósea o la prevención de la muerte celular tras la isquemia. La alteración de la homeostasis del calcio, es decir, un desequilibrio del calcio, se entiende que provoca y/o se correlaciona con muchas enfermedades, síndromes y condiciones. Entre dichas enfermedades, síndromes y condiciones se incluyen aquéllas asociadas a la calidad del sueño, la calidad energética, la calidad del humor, la calidad de la memoria y la percepción del dolor. El estudio de las CaBP ha conducido a su reconocimiento como factores protectores que actúan en el mantenimiento de los niveles iónicos correctos de calcio.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a la administración de apoacuorina como el único ingrediente activo para tratar el desequilibrio del calcio, para retrasar la progresión del desequilibrio del calcio, para prevenir la aparición de desequilibrio del calcio y para prevenir y/o tratar la recurrencia del desequilibrio del calcio. En otras realizaciones, la invención se refiere a la administración de apoacuorina en combinación con uno o más agentes adicionales que presentan un valor terapéutico o nutracéutico conocido. Son aplicaciones particularmente preferentes de la apoacuorina en el tratamiento de uno o más síntomas y trastornos relacionados con la calidad del sueño, la energía, el humor, la memoria y la percepción del dolor.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "que trata" incluye el tratamiento preventivo, así como el tratamiento remitente de un trastorno. Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos "reducir", "aliviar", "suprimir" e "inhibir" presentan su significado entendido comúnmente de rebajar o reducir. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "progresión" se refiere a incrementar el alcance o la severidad, el avance, el crecimiento o el empeoramiento. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "recurrencia" se refiere al retorno de una enfermedad tras una remisión.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "administrar" se refiere a poner en contacto un paciente, tejido, órgano o célula con apoacuorina. Tal como se utiliza en la presente memoria, la administración puede llevarse a cabo *in vitro*, es decir, en una probeta, o *in vivo*, es decir, en células o tejidos de organismos vivos, por ejemplo seres humanos. En realizaciones preferentes, la presente invención comprende administrar las composiciones que resultan útiles en la presente invención en un paciente o sujeto. Un "paciente" o "sujeto", utilizados equivalentemente en la presente memoria, se refiere a un mamífero, preferentemente un ser humano, que: (1) presenta un trastorno relacionado con el desequilibrio del calcio, remediable o tratable mediante la administración de apoacuorina, o (2) es susceptible a un trastorno relacionado con un desequilibrio del calcio que puede prevenirse mediante la administración de apoacuorina.

Tal como se utilizan en la presente memoria, las expresiones "cantidad efectiva" y "cantidad terapéuticamente efectiva" se refieren a la cantidad de agentes activos suficiente para rendir una respuesta terapéutica deseada sin efectos secundarios adversos indebidos, tales como toxicidad, irritación o respuesta alérgica. La "cantidad efectiva" específica evidentemente variará según factores tales como la condición particular bajo tratamiento, la condición física del paciente, el tipo de animal bajo tratamiento, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente (en caso de existir) y las formulaciones específicas utilizadas y al estructura de los compuestos o sus derivados. En este caso, una cantidad se consideraría terapéuticamente efectiva en el caso de que resultase en uno o más de los siguientes: (1) la prevención de un trastorno relacionado con un desequilibrio del calcio, y (2) la reversión o estabilización de un trastorno relacionado con un desequilibrio del calcio. Las cantidades efectivas óptimas pueden ser fácilmente determinadas por un experto ordinario en la materia utilizando experimentación rutinaria.

En determinadas composiciones preferentes para la administración oral en sujetos, la apoacuorina se formula con por lo menos un portador aceptable a una dosis de aproximadamente 10 mg/dosis, una dosis preferentemente en forma de cápsula, con una dosificación recomendada para un sujeto de aproximadamente 10 mg/día (es decir, una cápsula al día).

Entre las composiciones según la presente invención se incluyen líquidos o liofilizados o formulaciones secadas de otra manera, y entre ellas se incluyen diluyentes de diverso contenido de tampón (por ejemplo Tris-HCl, acetato, fosfato), pH y fuerza iónica, aditivos tales como albúmina o gelatina para prevenir la adsorción a superficies, detergentes (por ejemplo Tween-20, Tween-80, Pluronic F68, sales de ácidos biliares), agentes solubilizadores (por ejemplo glicerol, polietilenglicerol), antioxidantes (por ejemplo ácido ascórbico, metabisulfito sódico), conservantes (por ejemplo Timerosal, alcohol bencílico, parabenos), sustancias volumétricas o modificadores de la tonicidad (por ejemplo lactosa, manitol), unión covalente de polímeros tales como polietilenglicol a la proteína, acomplejamiento con iones metálicos, o la incorporación del material en o sobre preparaciones particulares de compuestos poliméricos tales como ácido poliláctico, ácido poliglicólico o hidrogeles, o sobre liposomas, microemulsiones, micelas, vesículas lamelares o multilamelares, eritrocitos fantasmas o esferoplastos. Dichas composiciones influyen sobre el estado físico, solubilidad, estabilidad, tasa de liberación *in vivo* y tasa de eliminación *in vivo*. Entre las

composiciones de liberación controlada o sostenida se incluyen la formulación de depósitos lipofílicos (por ejemplo ácidos grasos, ceras, aceites).

También se encuentran comprendidas en la invención composiciones particuladas recubiertas con polímeros (por ejemplo poloxámeros o poloxaminas). Otras realizaciones de las composiciones incorporar formas particulares de recubrimiento protector, inhibidores de proteasa o intensificadores de la permeación para diversas vías de administración, incluyendo la parenteral, pulmonar, nasal y oral. En determinadas realizaciones, la composición se administra por vía parenteral, paracanceral, transmucosal, intramuscular, intravenosa, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular, intracraneal o intratumoral.

Además, tal como se utiliza en la presente memoria, los "portadores farmacéuticamente aceptables" son bien conocidos por el experto en la materia y entre ellos se incluyen, aunque sin limitarse a ellos, tampón fosfato 0,01 a 0,1 M y preferentemente 0,05 M o solución salina al 0,9%. Además, dichos portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser soluciones, suspensiones y emulsiones acuosas o no acuosas. Son ejemplos de solventes no acuosos el propilenglicol, el polietilenglicol, aceites vegetales tales como el aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables tales como el oleato de etilo. Entre los portadores acuosos se incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados.

Entre los vehículos parenterales se incluyen solución de cloruro sódico, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro sódico, solución lactato de Ringer y aceites fijos. Entre los vehículos intravenosos se incluyen reabastecedores de líquidos y nutrientes, reabastecedores de electrolitos tales como los basados en dextrosa de Ringer y similares. También pueden encontrarse presentes conservantes y otros aditivos, tales como, por ejemplo, antimicrobianos, antioxidantes, agentes quelantes, gases inertes y similares.

Entre las composiciones de liberación controlada o sostenida administrables según la invención se incluyen la formulación en depósitos lipofílicos (por ejemplo ácidos grasos, ceras y aceites). También se encuentran comprendidos en la invención composiciones particuladas recubiertas con polímeros (por ejemplo poloxámeros o poloxaminas) y el compuesto acoplado con anticuerpos dirigidos contra receptores específicos de tejido, ligandos o antígenos o acoplado con ligandos de receptores específicos de tejido.

Otras realizaciones de las composiciones administradas según la invención incorporan formas particuladas, recubrimientos protectores, inhibidores de proteasa o intensificadores de la permeación para diversas vías de administración, incluyendo las vías parenteral, pulmonar, nasal, oftálmica y oral.

Las entidades químicas modificadas mediante el enlace covalente de polímeros solubles en agua, tales como polietilenglicol, copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o poliprolina es conocido que muestran vidas medias sustancialmente más prolongadas en sangre tras la inyección intravenosa que los compuestos no modificados correspondientes. Dichas modificaciones también pueden incrementar la solubilidad de las entidades químicas en solución acuosa, eliminar la agregación, incrementar la estabilidad física y química del compuesto y reducir en gran medida la inmunogenicidad y la reactividad del compuesto. En consecuencia, la actividad biológica *in vivo* deseada puede conseguir mediante la administración de dichos compuestos de entidad polimérica menos frecuentemente o a dosis menores que con la entidad no modificada.

La composición puede administrarse en un sistema de liberación controlada. Por ejemplo, el agente puede administrarse utilizando la infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas u otros modos de administración. Puede utilizarse una bomba. Pueden utilizarse materiales poliméricos. Puede situarse un sistema de liberación controlada en proximidad a la diana terapéutica, es decir, el cerebro, requiriendo de esta manera sólo una fracción de la dosis sistémica.

La composición puede comprender apoacurina sola, o puede incluir además un portador farmacéuticamente aceptable, y puede encontrarse en forma sólida o líquida, tal como tabletas, polvos, cápsulas, pellets, soluciones, suspensiones, elixires, jarabes, bebidas, emulsiones, geles, cremas, formulaciones oftálmicas o supositorios, incluyendo supositorios rectales y uretrales. Entre los portadores farmacéuticamente aceptables también pueden incluirse gomas, almidones, azúcares, materiales celulósicos y mezclas de los mismos. La composición que contiene apoacurina puede administrarse en un paciente mediante, por ejemplo, implantación subcutánea de un pellet. En una realización adicional, un pellet proporciona la liberación controlada de apoacurina durante un periodo de tiempo. La composición también puede administrarse mediante inyección intravenosa, intraarterial o intramuscular de un líquido, la administración oral de un líquido o sólido, o mediante aplicación tópica. La administración también puede llevarse a cabo mediante la utilización de un supositorio rectal o un supositorio uretral.

Las composiciones administrables mediante la invención pueden prepararse mediante procedimientos de disolución, mezcla, granulado o formación de tabletas conocidos. Para la administración oral, se mezcla apoacurina o sus derivados fisiológicamente tolerados, tales como sales, ésteres N-óxidos y similares, con aditivos habituales para este fin, tales como vehículos, estabilizadores o diluyentes inertes, y convertirse mediante métodos habituales en formas adecuadas para la administración, tales como tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas de gelatina dura o blanda, soluciones acuosas alcohólicas o aceitosas.

Son ejemplos de vehículos inertes adecuados, bases de tableta convencionales, tales como lactosa, sacarosa o almidón de maíz en combinación con ligantes tales como acacia, almidón de maíz, gelatina, con agentes desintegrantes tales como almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico o con un lubricante tal como ácido esteárico o estearato de magnesio.

- 5 Son ejemplos de vehículos o solventes aceitosos adecuados aceites vegetales o animales, tales como aceite de girasol o aceite de hígado de pescado. Pueden prepararse composiciones en forma de gránulos tanto secos como húmedos. Para la administración parenteral (inyección subcutánea, intravenosa, intraarterial o intramuscular), la entidad química o sus derivados fisiológicamente tolerados, tales como sales, ésteres, N-óxidos y similares, se convierten en una solución, suspensión o emulsión, si se desea con las sustancias habituales y adecuadas para este fin, por ejemplo solubilizadores u otros auxiliares.

- 10 Son ejemplos líquidos estériles tales como agua y aceites, con o sin la adición de un surfactante y otros adyuvantes farmacéuticamente aceptables. Son aceites ilustrativos los originados en el petróleo y de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de soja o aceite mineral. En general, son portadores líquidos preferentes, particularmente para soluciones inyectables, agua, solución salina, dextrosa acuosa y soluciones de azúcar relacionadas, y glicoles tales como propilenglicoles o polietilenglicol.

- 15 La preparación de composiciones que contienen un componente activo es bien conocida de la técnica. Dichas composiciones pueden prepararse en forma de aerosoles administraciones en la nasofaringe, o como inyectables, como soluciones o suspensiones líquidas; sin embargo, también pueden prepararse formas sólidas adecuadas para la solución o suspensión en líquido previamente a la inyección. La composición también puede emulsionarse. El ingrediente terapéutico activo con frecuencia se mezcla con excipientes que son farmacéuticamente aceptables y compatibles con el ingrediente activo. Entre los excipientes adecuados se incluyen, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol o similares, o cualquier combinación de los mismos. Además, la composición puede contener cantidades menores de sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH que incrementan la efectividad del ingrediente activo.

- 20 Puede formularse un componente activo en la composición como formas salinas farmacéuticamente aceptables neutralizadas. Entre las sales farmacéuticamente aceptables se incluyen las sales de adición de ácido, las cuales se forman con ácidos inorgánicos tales como, por ejemplo, los ácidos hidrocórico o fosfórico, o ácidos orgánicos tales como los ácidos acético, tartárico, mandélico y similares. Las sales formadas a partir de grupos carboxilo libres también pueden derivarse de bases inorgánicas tales como, por ejemplo, hidróxidos de sodio, potasio, amonio, calcio o hierro, y bases orgánicas tales como isopropilamina, trimetilamina, 2-(etilamino)-etanol, histidina, procaína y similares.

- 30 Para la administración tópica en superficies corporales utilizando, por ejemplo, cremas, geles, gotas y similares, se prepara apoacuorina o sus derivados fisiológicamente tolerados y se aplica en forma de soluciones, suspensiones o emulsiones en un diluyente fisiológicamente aceptable con o sin un portador farmacéutico.

- 35 El componente activo puede administrarse en una vesícula, en particular un liposoma (ver Langer, Science 249:1527-1533, 1990; Treat *et al.*, Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein y Fidler (editores), Liss, N.Y., páginas 353 a 365, 1989).

- Las sales de apoacuorina preferentemente son sales farmacéuticamente aceptables. Sin embargo, otras sales pueden resultar útiles en la preparación de las composiciones según la invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Entre las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas se incluyen sales de adición de ácido que pueden formarse, por ejemplo, mediante la mezcla de una solución de apoacuorina con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido hidrocórico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido oxálico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico.

- 45 Además, las composiciones que contienen apoacuorina indicadas en la presente memoria pueden proporcionarse en forma de composiciones nutracéuticas en las que la apoacuorina evita la aparición o reduce o estabiliza diversos trastornos perjudiciales relacionados con el desequilibrio del calcio. El término "nutracéutico" o "composición nutracéutica", para los propósitos de la presente memoria, se refiere a un ítem alimenticio, o a una parte de un ítem alimenticio, que ofrece beneficios de salud médica, incluyendo la prevención y/o tratamiento de enfermedades. Una composición nutracéutica según la presente invención puede contener únicamente apoacuorina como ingrediente activo, o alternativamente, puede comprender además, mezclado con suplementos dietéticos, vitaminas, coenzimas, minerales, hierbas, aminoácidos y similares que suplementan la dieta incrementando la ingesta total de dicha sustancia.

- 50 Por lo tanto, la presente exposición proporciona maneras de proporcionar beneficios nutracéuticos a un paciente, que comprende la etapa de administrar en el paciente una composición nutracéutica que contiene apoacuorina. Dichas composiciones generalmente incluyen un "portador nutracéuticamente aceptable" que, tal como se indica en la presente memoria, es cualquier portador adecuado para la administración oral, incluyendo los portadores farmacéuticamente aceptables anteriormente indicados que resultan adecuados para la vía oral. Las composiciones

nutracéuticas comprenden suplementos dietéticos que, definidos sobre una base funcional, incluyen agentes de refuerzo inmunológico, agentes antiinflamatorios, agentes antioxidantes, agentes antivíricos o mezclas de los mismos.

Los refuerzos inmunológicos y/o los agentes antivíricos resultan útiles para acelerar la cicatrización de heridas y una función inmunológica mejorada, e incluyen extractos de flores de equinácea o hierbas del género *Echinacea*, extractos de plantas herbáceas del género *Sambuca* y extractos de sello de oro. Las plantas herbáceas del género *Astragalus* también resultan eficaces refuerzos inmunológicos en sus formas natural o procesada. *Astragalus* estimula el desarrollo de células madre en las células inmunológicas activas de la médula y del tejido linfático. El cinc y sus sales bioactivas, tales como el gluconato de cinc y el acetato de cinc, también actúan como refuerzos inmunológicos en el tratamiento del resfriado común.

Entre los antioxidantes se incluyen el aminoácido natural sulfurado alicina, que actúa incrementando el nivel de enzimas antioxidantes en la sangre. Algunas hierbas o extractos herbales, tales como el ajo, que contiene alicina, también son antioxidantes eficaces. Las catequinas, y los extractos de hierbas tales como el té verde que contienen catequinas también son antioxidantes efectivos. Los extractos del género *Astragalus* también muestran actividad antioxidante. Los bioflavonoides, tales como la quercetina, la hesperidina, la rutina y las mezclas de los mismos, también resultan eficaces como antioxidantes. El papel beneficioso principal de los bioflavonoides podría ser la protección de la vitamina C frente a su oxidación en el cuerpo. Lo anterior incrementa la disponibilidad de la vitamina C, o ácido ascórbico, para la utilización por parte del cuerpo.

Los bioflavonoides, tales como la quercetina, también resultan ser agentes antiinflamatorios eficaces, y pueden utilizarse como tales en las composiciones inventivas. También pueden utilizarse suplementos herbales antiinflamatorios y compuestos antiinflamatorios derivados de plantas o hierbas a modo de agentes antiinflamatorios en la composición inventiva. Entre ellas se incluyen bromolaina, un enzima proteolítico presente en la piña; téis y extractos de la ortiga; cúrcuma, extractos de cúrcuma o curcumina, un pigmento amarillo aislado a partir de la cúrcuma.

Otro suplemento es la ginebra, derivado de las hierbas del género *Zingiber*. Se ha encontrado que presenta actividad cardiotónica debido a compuestos tales como el gingerol y el compuesto relacionado shogaol, así como proporciona beneficios en el tratamiento del mareo y los trastornos vestibulares. La ginebra también resulta efectiva en el tratamiento de la náusea y otros trastornos estomacales.

Los suplementos que ayudan en la reconstrucción de las estructuras de tejido blanco, particularmente en la reconstrucción del cartílago, resultan útiles en composiciones para el tratamiento del dolor de la artritis y otros trastornos articulares. La glucosamina, la glucosamina sulfato y la condroitina pueden derivarse de una diversidad de fuentes, tales como asta terciopelo de alce, complejos de lípidos marinos, complejos de ácido graso omega-3 y aceite de pescado, también es conocido que resultan útiles en el tratamiento del dolor asociado a la artritis.

Entre los suplementos útiles en el tratamiento de las cefaleas migrañosas se incluyen matricaria y *Ginkgo biloba*. El ingrediente activo principal en la matricaria es la lactona sesquiterpénica partenólido, la cual inhibe las secreciones de las prostaglandinas, que a su vez provocan dolor mediante su actividad vasoespástica sobre los vasos sanguíneos. La matricaria también muestra propiedades antiinflamatorias. El aceite de pescado, debido a sus acciones estabilizadores de las plaquetas y antivasoespásticas, también puede resultar útil en el tratamiento de las cefaleas migrañosas. La planta herbácea *Ginkgo biloba* también ayuda en el tratamiento de las migrañas mediante la estabilización de las arterias y la mejora de la circulación sanguínea.

Aunque algunos de los suplementos listados anteriormente se han descrito por sus efectos farmacológicos, también pueden utilizarse otros suplementos y sus efectos se encuentran bien documentados en la literatura científica.

La invención se entenderá más completamente tras la consideración de los Ejemplos siguientes.

Ejemplos

Ejemplo 1. La administración de apoacurina durante un curso temporal de noventa (90) días resulta en una calidad de vida mejorada de los sujetos de ensayo.

El presente ensayo, un estudio de etiqueta abierta de 32 pacientes durante un periodo de 90 días muestra un incremento de la calidad global del sueño, de la energía, humor, dolor y estado general. Se midieron los cambios de rendimiento mediante una batería estandarizada de preguntas. Entre ellas se incluían evaluaciones del ensayo cognitivo cualitativo, un índice del sueño, un índice de las cefaleas y un cuestionario de calidad de vida. El estudio mostraba un rendimiento mejorado. Ningún participante interrumpió el estudio debido a un suceso adverso.

Los resultados ilustrados en la fig. 1 muestran el porcentaje de cambio respecto a la línea base de las puntuaciones de las áreas mencionadas; los presentes inventores excluyeron las puntuaciones de memoria para otro gráfico. El presente análisis se muestra marcado en los gráficos como 1, 2, 3, 4 y 5 vs. días 0 a día 90. El gráfico muestra un incremento de la calidad global del sueño, de la energía, humor, dolor y salud general. La línea base se conocía de una etapa previa al estudio.

Ejemplo 2. La administración de apoacurina durante un curso temporal de treinta (30) días resultó en una calidad de vida mejorada de los sujetos de ensayo.

5 El presente ensayo era un estudio de etiqueta abierta para 56 participantes durante un periodo de 30 días. Se midieron los cambios de rendimiento mediante una herramienta de cribado de la memoria. Tal como se ilustra en la fig. 2, el estudio mostró un rendimiento mejorado de la memoria incluso a los ocho días, aunque con una mejora estadísticamente superior el día 30. Ningún participante interrumpió el estudio debido a un suceso adverso.

Ejemplo 3. La administración de apoacurina durante un curso temporal de noventa (90) días resultó en una cognición mejorada de los sujetos de ensayo.

10 El presente análisis, para un estudio de etiqueta abierta de 32 pacientes mostró un incremento de la capacidad cognitiva. Se midieron los cambios de rendimiento mediante una batería cognitiva estandarizada. El estudio mostró una cognición mejorada incluso a los 8 días, aunque con una mejora estadísticamente superior el día 30, así como los días 60-90. Ningún participante interrumpió el estudio debido a un suceso adverso. Los resultados mostrados en la fig. 3 demuestran un porcentaje de incremento significativo respecto a la línea base de las puntuaciones de capacidad cognitiva. Nota: más de 51% de los participantes presentó un incremento de la capacidad cognitiva.

15

REIVINDICACIONES

1. Utilización de apoacurina para la preparación de una composición nutracéutica destinada al tratamiento de un trastorno asociado al desequilibrio del calcio en un sujeto en el que se administra dicha composición nutracéutica.
- 5 2. Utilización de apoacurina según la reivindicación 1 para la preparación de una composición nutracéutica destinada al tratamiento de un trastorno según la reivindicación 1 asociada al sueño, la energía, el humor, el dolor o la memoria en un sujeto en el que se administra dicha composición nutracéutica.
3. Apoacurina para la utilización en el tratamiento de un trastorno asociado al desequilibrio del calcio en un sujeto.
- 10 4. Apoacurina según la reivindicación 3, para la utilización en el tratamiento de un trastorno según la reivindicación 3 asociado al sueño, la energía, el humor, el dolor o la memoria en un sujeto.

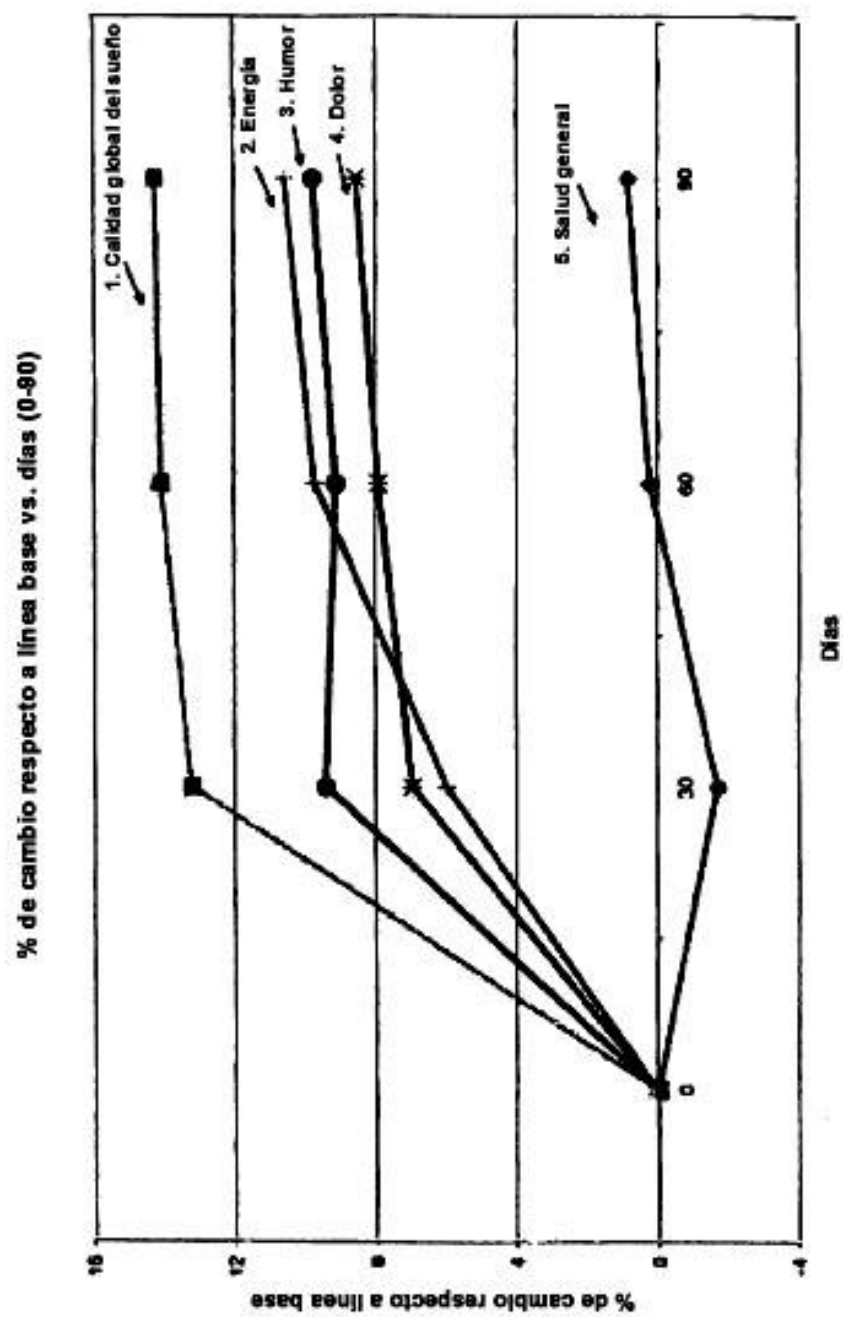


Fig. 1

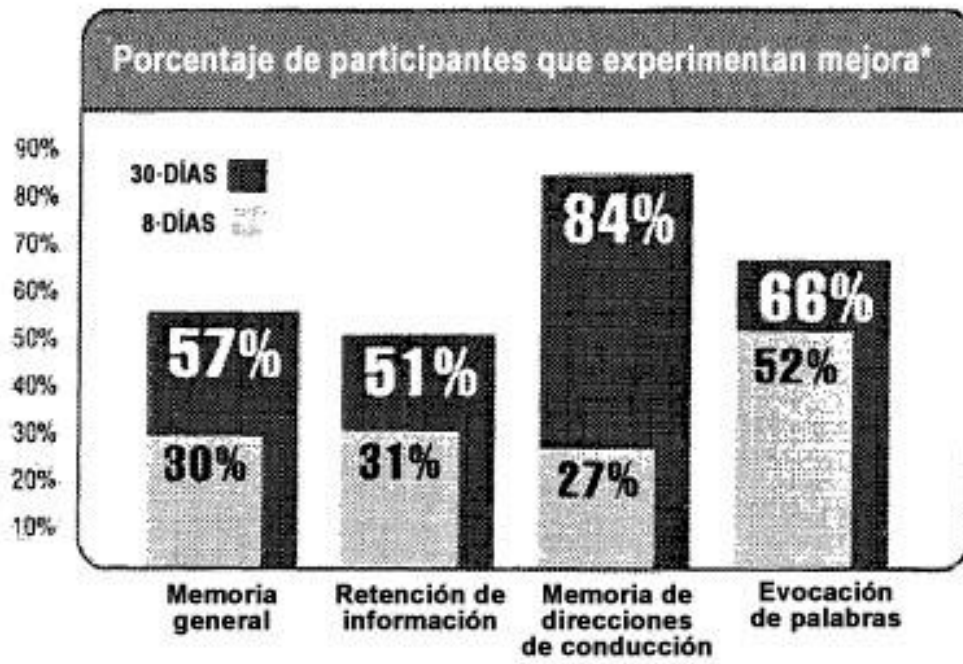


Fig. 2

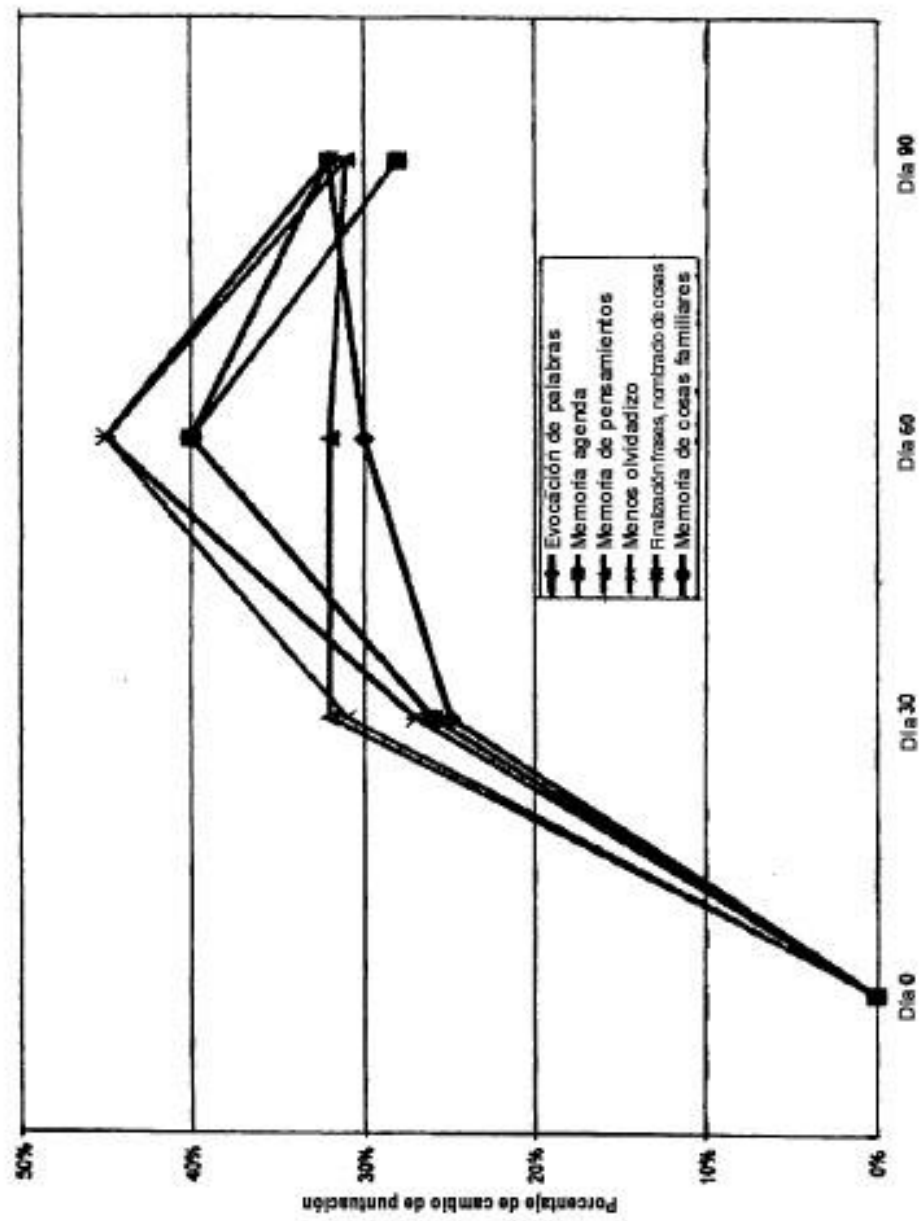


Fig. 3