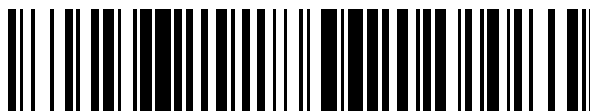


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 409 932**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/455 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61K 36/48 (2006.01)

A61K 36/74 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.03.2008 E 08720142 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2114393**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas que comprenden trigonelina y 4-hidroxiisoleucina y su proceso de preparación**

30 Prioridad:

05.03.2007 US 893075 P

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

28.06.2013

73 Titular/es:

**INDUS BIOTECH PRIVATE LIMITED (100.0%)
1, Rahul Residency, Plot Nos. 6 & 7, Off Salunke
Vihar Road, Kondhwa
Pune 411 048, Maharashtra , IN**

72 Inventor/es:

**BHASKARAN, SUNIL y
VISHWARAMAN, MOHAN**

74 Agente/Representante:

PONTI SALES, Adelaida

ES 2 409 932 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 farmacéuticas que comprenden trigonelina y 4-hidroxiisoleucina y su proceso de preparación

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] Esta invención se refiere a una nueva composición y a su preparación a partir de fuentes naturales. Esta invención también se refiere a la aplicación de una nueva composición como agente dopaminérgico con aplicaciones en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la dopamina como la enfermedad de Parkinson.

[0002] Esta invención también se refiere a la aplicación como relajante muscular y para disminuir los efectos secundarios producidos por los fármacos antipsicóticos.

15 ANTECEDENTES Y TÉCNICA PREVIA DE LA INVENCION

[0003] En el documento WO 2004/100968 A2 se describe una composición que comprende trigonelina, 4-hidroxiisoleucina y una fibra soluble, opcionalmente junto con aditivos farmacéuticamente aceptables. La composición puede usarse para el tratamiento de la diabetes. Además se describe un proceso para la preparación de la composición. El procedimiento comprende descascarilla semillas de fenogreco y extraer las semillas descascarilladas con hidroalcohol. A continuación, el extracto se concentra al vacío para eliminar el alcohol y, después el concentrado se deslipidiza con n-hexano. Posteriormente, el concentrado deslipidizado se diluye y filtra para eliminar material insoluble y obtener un material resultante.

[0004] En el documento US 2005/226948 A1 se describe una composición que comprende trigonelina y 4-hidroxiisoleucina para potenciar el transporte de glucosa dentro del músculo en el organismo de un mamífero con el fin de equilibrar los niveles de azúcar ayudando al organismo a hacer más rentable el uso de insulina endógena. En el párrafo [0093] del documento US 2005/226948 A1 se describe un procedimiento para la extracción de semillas de fenogreco en el que dichas semillas se extraen usando un primer disolvente para obtener un residuo de semillas y un extracto de semillas. El residuo de semillas se destila y el residuo de semillas destilado se concentra al vacío para separa el aceite de semillas de fenogreco y el primer disolvente. El extracto de semillas se extrae usando un segundo disolvente para obtener un segundo residuo de semillas y un extracto de semillas concentrado. Este extracto de semillas concentrado se concentra de nuevo al vacío para separa un segundo extracto de semillas concentrado del segundo disolvente. Tras enfriar el segundo extracto de semillas concentrado a temperatura ambiente y separarle en proteínas sin procesar y sobrenadante, el sobrenadante se diluye con agua destilada.

[0005] El documento WO 2006/084964 A1 se refiere a una composición fitosanitaria para el tratamiento de plantas. La composición contiene al menos un compuesto activo seleccionado entre trigonelina, 4-hidroxiisoleucina, saponinas, saponinas esteroideas y triterpenoides y ácido nicotínico.

[0006] En el documento WO 2005/021596 A1 se describe una composición para facilitar y apoyar el metabolismo y el transporte de glucosa e hidratos de carbono dentro de las células musculares, promover la función y el crecimiento muscular, promover la síntesis de glucógeno, potenciar el consumo de glucosa, estimular a las células beta del páncreas, promover la recuperación metabólica, promover la recuperación muscular, promover la masa muscular magra y promover la quema de grasas. La composición puede derivar, aislarse y/o extraerse de semillas de fenogreco.

[0007] La dopamina es una hormona y un neurotransmisor presente tanto en vertebrados como en invertebrados. Químicamente, es una feniletilamina presente en el cerebro que actúa como neurotransmisor activando los receptores específicos de dopamina (D1-D5). La dopamina tiene muchas funciones en el cerebro, incluyendo funciones importantes en el comportamiento y conocimiento, actividad motora, motivación y recompensa, regulación de producción de la leche, sueño, estado de ánimo, atención y aprendizaje. La dopamina tiene una función importante en el apetito, sociabilidad, trascendencia, trastornos del comportamiento, inhibición latente e impulso creativo. La dopamina también está implicada en la regulación de la secreción de prolactina.

[0008] Niveles inadecuados de dopamina desencadenan síntomas como temblores, rigidez y bradiquinesia (lentitud de movimientos). En sujetos sanos, las neuronas producen y liberan dopamina en el cerebro y en otras partes del organismo. Cuando la dopamina es liberada por una neurona, esta es recibida por los receptores de la siguiente neurona. Esta reacción en cadena lleva finalmente a la estimulación de los nervios. Diversos trastornos neurológicos pueden interferir con la producción de dopamina y hacer que descendan los niveles de dopamina en el cerebro. Los niveles anómalos de dopamina también pueden producir diversos trastornos, algunos de los cuales son crónicamente degenerativos (como la enfermedad de Parkinson).

[0009] La dopamina influye fuertemente tanto sobre el área motora del cerebro como sobre el área del pensamiento. Un tipo de dopamina participa en el movimiento y en el sistema motor. Cuando los niveles de dopamina disminuyen por debajo del «intervalo normal», se establecen problemas motores y de movimiento importantes. Es sabido que niveles muy bajos de dopamina en las áreas motoras del cerebro producen la enfermedad de Parkinson con síntomas como: rigidez y agarrotamiento muscular, encorvamiento/postura inestable, pérdida de equilibrio y coordinación, alteración de la marcha (patrón de caminar), lentitud de movimientos y dificultad para realizar movimientos voluntarios, marcha/caminar a pequeños pasos, dolor muscular, temblores y sacudidas, expresión facial con aspecto de máscara, habla lenta y monótono, alteración de las habilidades motoras finas, caídas durante la marcha y alteración de la capacidad cognitivo/intelectual.

[0010] Niveles bajos de dopamina alteran la capacidad para concentrarse en el entorno o centrarse en tareas, actividades o conversaciones. Los niveles bajos de dopamina hacen que sea muy difícil concentrarse y centrarse sobre algo y también se asocian con el trastorno de hiperactividad con déficit de atención (TDAH)

[0011] La dopamina también tiene un papel fundamental en la inhibición de la secreción de prolactina. La prolactina es una hormona peptídica secretada por las células lactótroas en la glándula pituitaria. La prolactina tiene una función principal en la lactancia y en la gratificación sexual (que está producida por bajos niveles de dopamina. Son necesarios niveles adecuados de dopamina para la excitación sexual). La dopamina actúa como el principal factor inhibidor de prolactina y es secretada dentro de la sangre portal por las neuronas del hipotálamo, se une a los receptores de la células lactótroas e inhibe tanto la síntesis como la secreción de prolactina. El aumento en los niveles de prolactina tiene muchos efectos perjudiciales como infertilidad, síndrome de ovario poliquístico (SOPQ), cefaleas, reducción de la libido y problemas de visión. Los niveles altos de prolactina son debido a muchos factores como el estrés físico y mental. Por tanto, un compuesto dopaminérgico (aquel que aumenta los niveles de dopamina) tendrá una función principal en la regulación (limitación) de los niveles de prolactina, controlando de ese modo los diversos efectos de los altos niveles de prolactina.

[0012] Se encuentra que el ejercicio crónico y extenuante como el que practican atletas, culturistas y deportistas en general, también puede inducir un aumento del nivel de prolactina. Este aumento de la prolactina disminuye su libido e induce disfunción sexual. Por tanto, pueden usarse fármacos dopaminérgicos para disminuir los niveles de prolactina y eliminar, de este modo, los efectos secundarios manteniendo esta hormona dentro de los límites fisiológicos.

[0013] Puede usarse fármacos dopaminérgicos como relajantes musculares ya que inhiben la excitación producida por la acetilcolina. Por tanto, la sustancia dopaminérgica de esta invención puede usarse como relajante muscular en la fisiología del ejercicio, como anestesia y en casos de espasmos musculares.

[0014] Uno de los principales efectos de los niveles bajos de dopamina son los trastornos del movimiento. Los trastornos del movimiento son un grupo de enfermedades y síndromes que afectan a la capacidad para producir y controlar los movimientos. La producción de cualquier forma de movimiento, incluso movimientos sencillos, requiere de la coordinación y acción de una compleja red de señales. La alteración de cualquier porción de este sistema puede hacer que una persona realice movimientos demasiado débiles, demasiado enérgicos, demasiado descoordinados o muy mal controlados para la tarea que se tiene entre manos. Puede producirse movimientos no deseados en estado de reposo o puede que movimientos intencionados se conviertan en imposibles. Estas afecciones se denominan trastornos del movimiento.

[0015] En algunos casos, los movimientos anómalos son los únicos síntomas de niveles bajos de dopamina. Entre los trastornos que producen movimiento anómalos se incluyen: enfermedad de Parkinson, parkinsonismo causado por fármacos o venenos y síndromes Parkinson plus (parálisis supranuclear progresiva, atrofia multisistémica y degeneración corticobasal ganglionar).

[0016] Estos trastornos se producen debido a una falta o exceso del neurotransmisor dopamina. La terapia con fármacos puede ayudar a compensar determinados desequilibrios del circuito ganglionar basal. La acetilcolina es un compuesto químico excitante que ayuda a regular los niveles de dopamina en el cerebro. En el organismo, la acetilcolina se libera en las terminaciones nerviosas produciendo la contracción muscular.

[0017] El Parkinson es una enfermedad degenerativa progresiva en la que se destruyen las células productoras de dopamina lo que produce un problema de coordinación de movimientos. Este se caracteriza por temblores, rigidez, acinesia e inestabilidad postural. La principal anomalía bioquímica es la eliminación de dopamina y que se produce un desequilibrio entre acetilcolina y dopamina. Las causas del Parkinson no se conocen con claridad. Existe una débil relación hereditaria en algunos casos. También está producido por MPTP (metil fenil tetrahidro piridina), una toxina ambiental que se utiliza como pesticida.

[0018] Normalmente, la enfermedad de Parkinson es una enfermedad de la tercera edad que aparece después de los 65 años. Está producida por la muerte de un grupo de células nerviosas en el cerebro denominadas «sustancia nigra» o sustancia negra debido a su aspecto oscuro. El proceso nervioso a partir de estas células normalmente se expande a otra zona del cerebro denominada cuerpo estriado, donde se producen conexiones y liberación de un producto químico denominado dopamina como su neurotransmisor.

[0019] La sustancia nigra y el cuerpo estriado ayudan a controlar el movimiento, incluso nuestra capacidad para iniciar el movimiento. Con la pérdida de la vía nigroestriada, el paciente con Parkinson tiene una dificultad extrema para realizar actos, como levantarse de la silla y empezar a andar. También experimentan aumento de los temblores y de la rigidez muscular.

[0020] Entre los procedimientos actuales para el tratamiento de enfermedades relacionadas con dopamina (p. ej.; Parkinson y enfermedades relacionadas con bajos niveles de dopamina) se incluyen:

L-Dopa (dihidroxi fenil alanina)

[0021] Puesto que la causa de la enfermedad de Parkinson es una pérdida de las células nerviosas que liberan dopamina, una aproximación para el tratamiento de esta enfermedad es reestablecer los niveles de dopamina en el cerebro. La dopamina no pasará de la sangre al cerebro. Dentro de las células nerviosas, la dopamina es producida por una serie de reacciones químicas catalizadas por enzimas. La última etapa en la secuencia es la formación de dopamina a partir del aminoácido L-Dopa. La L-Dopa pasa fácilmente de la sangre al cerebro. El tratamiento más popular y eficaz para el Parkinson es la administración de L-Dopa en forma de pastilla.

[0022] La L-Dopa se introduce en el torrente sanguíneo y para al cerebro. En el cerebro, la Dopa descarboxilasa la convierte en dopamina. La L-Dopa produce una mejora muy marcada del movimiento general, la expresión facial y la postura corporal. Sin embargo, tiene poco efecto sobre los temblores, los problemas para tragar, el equilibrio y la lentitud al iniciar los movimientos.

Combinación de otros fármacos con L-Dopa

[0023] La enzima Dopa descarboxilasa que convierte L-dopa en dopamina se encuentra en la sangre y en los tejidos corporales. Por tanto, L-Dopa se degrada en el suero hasta el 90%. Esto se bloquea inhibiendo esta enzima mediante otros fármacos como carbidopa y benserazida. Estos se combinan con L-Dopa para aumentar su disponibilidad en el cerebro. Carbidopa y benserazida no pasan al cerebro.

Tolcapone y entacapone

[0024] L-Dopa también es metabolizada por otra enzima, la COMT (catecol O-metil transferasa). Estos fármacos inhiben la COMPT y hacen que la L-Dopa esté disponible en el cerebro. Aunque estos fármacos tienen problema a largo plazo con la L-Dopa. Durante la administración a largo plazo de L-Dopa, los pacientes pueden experimentar fluctuaciones en su efecto. Puede que se produzca un mayor retraso en la aparición de su acción y que se acorte el periodo de acción del fármaco. Los pacientes también experimentar periodos de síntomas controlados y no controlados. Esto supone que los pacientes pueden funcionar perfectamente bien durante bastantes horas después de la administración del fármaco y descubrir que el efecto del fármaco desaparece bruscamente.

[0025] Efectos secundarios de L-Dopa: La mayoría de los pacientes siente náuseas; su uso prolongado puede inducir esquizofrenia, especialmente alucinaciones y alteración del sueño. Su uso continuo también induce a movimientos lentos e involuntarios

Inhibidores de MAO (monoaminooxidasa)

[0026] Una alternativa para aumentar la formación de dopamina en el cerebro es la administración de L-Dopa para disminuir la degradación de dopamina. La dopamina es degradada por la enzima monoamina oxidasa (MAO), especialmente la MAO-B. El deprenilo es un inhibidor de MAO-B.

Agonistas de receptores

[0027] Es posible compensar la pérdida de dopamina usando fármacos que actúan directamente sobre los receptores de dopamina. Fármacos como bromocriptina y lisurida son agonistas de receptores. Estos estimulan los receptores que responden a dopamina y actúan como sustitutos de la dopamina liberada normalmente por las neuronas nigroestriadas. Estos fármacos inducen una gama de movimientos involuntarios y actúan sobre los

receptores de dopamina en la glándula pituitaria, una parte del cerebro que controla muchas secreciones de hormonas importantes. Los efectos secundarios de la activación de los receptores de dopamina suprimiendo la liberación de la hormona prolactina son infertilidad y trastornos de la menstruación.

5 Fármacos anticolinérgicos

10 **[0028]** Dentro del núcleo estriado del cerebro, tanto dopamina como acetilcolina son neurotransmisores. La dopamina produce la inhibición de las células nerviosas mientras que la acetilcolina produce su excitación. Cuando el cerebro pierde células productoras de dopamina, la actividad de la acetilcolina permanece intacta. Por tanto, una estrategia es reducir la acetilcolina y equilibrar su efecto junto con el efecto de la dopamina. Los fármacos anticolinérgicos son más eficaces en la reducción de los temblores, aunque no tienen efecto sobre la rigidez muscular y la dificultad de movimiento. Estos fármacos tienen muchos efectos como sequedad de boca, visión borrosa, estreñimiento, dificultad para orinar, etc.

15 **[0029]** En la patente de EE. UU. 4880816 se describe un compuesto en el que la dopamina está combinada químicamente con otra molécula DHC, especialmente una trigonelina, que tiene la propiedad de atravesar la barrera hematoencefálica. Aquí, los compuestos DHC actúan como adyuvantes de la dopamina para atravesar la barrera hematoencefálica y se degradan y eliminan. Por tanto, no se ha definido ninguna acción dopaminérgica para la trigonelina.

20 **[0030]** Las terapias actuales se dirigen al alivio sintomático y ningún fármaco es capaz de inhibir la degeneración neuronal. Existe la necesidad urgente de una terapia menos agresiva y más suave para el tratamiento a largo plazo con efectos secundarios mínimos y con una eficacia óptima. La presente invención aborda esta necesidad urgente de un fármaco dopaminérgico, que puede utilizarse de forma eficaz para el tratamiento de enfermedades asociadas con la carencia de dopamina, incluso en la enfermedad de Parkinson.

25 **[0031]** Una desventaja principal de los fármacos antipsicóticos es que bloquean el receptor D2 de dopamina. Por tanto, estos fármacos inducen el efecto adverso de trastornos del movimiento ligados al bloqueo de los receptores D2 de dopamina en el cerebro. Por tanto, un fármaco dopaminérgico podría ser la respuesta a la inmovilidad causada como efecto secundario de los fármacos antipsicóticos.

OBJETOS DE LA INVENCION

35 **[0032]** El objeto principal de la presente invención es obtener una composición farmacéutica que tiene actividad dopaminérgica y otras actividades farmacéuticas relacionadas.

[0033] Otro objeto principal de la presente invención es obtener una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados, opcionalmente junto con excipientes.

40 **[0034]** Aún otro objeto de la presente invención es desarrollar un proceso de preparación de una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina y sus derivados, opcionalmente junto con excipientes.

45 **[0035]** Todavía otro objeto de la presente invención es extraer trigonelina y 4-hidroxiisoleucina a partir de una fuente vegetal.

[0036] Todavía otro objeto de la presente invención es utilizar la composición farmacéutica en el tratamiento de las enfermedades relacionadas con dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento.

50 **[0037]** Todavía otro objeto de la presente invención es utilizar la composición farmacéutica en el tratamiento de los efectos secundarios provocados por antagonistas de los receptores de dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento.

DECLARACION DE LA INVENCION

55 **[0038]** Por consiguiente, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que tiene actividad dopaminérgica y otras actividades farmacéuticas relacionadas que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes; un proceso de preparación de una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes, en el que el proceso comprende las etapas de: (a) extracción de una solución limpia que contiene trigonelina y 4-hidroxiisoleucina de una fuente vegetal y (b) opcionalmente, preparar derivados ácidos de trigonelina y 4-hidroxiisoleucina de la solución limpia y obtener dicha composición; Utilizar una
60

composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes en el tratamiento de enfermedades relacionadas con dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento, y el uso de una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes en el tratamiento de los efectos secundarios provocados por los antagonistas de receptores de dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS ACOMPAÑANTES

10 **[0039]**

Fig 1: se muestra la respuesta dependiente de dosis del fármaco en estudio en la reducción de la catalepsia. Las gráficas indican a IBH-B como el fármaco en estudio de la invención. Todos los valores de IBH-B (10, 30 o 100) + Hal (0,5) y L-DOPA (10) + Hal (0,5) son significativo a $p < 0,001$ y IBH-B (3) + Hal (0,5) no es significativo en comparación con Hal (0,5) al tiempo respectivo. El tratamiento con IBH-B reducía significativamente la catalepsia inducida por haloperidol.

Fig 2: se muestra una disminución significativa en la puntuación de temblores por el fármaco en estudio indicado como IBH-B en las gráficas.

Fig 3: se muestra el efecto del fármaco en estudio sobre la potenciación de tiramina (estudio agudo).

Fig 4: se muestra el efecto del fármaco en estudio sobre la potenciación de tiramina (estudio crónico).

Fig 5: curva de respuesta en la que se muestra la inhibición selectiva de la MAO-B por el fármaco en estudio.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0040] La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que tiene actividad dopaminérgica y otras actividades farmacéuticas relacionadas que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes, en la que la concentración de trigonelina o sus derivados oscila entre el 30 y el 90% y la concentración de 4-hidroxiisoleucina o sus derivados oscila entre el 10 y el 30%.

[0041] Aún todavía en otra realización de la presente invención, la trigonelina se obtiene de una fuente vegetal o animal.

[0042] Aún en otra realización de la presente invención, la trigonelina se obtiene a partir de *Trigonella foenum graecum* y *Coffea arabica*

[0043] Aún en otra realización de la presente invención, los derivados ácidos de trigonelina se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, preferiblemente derivados clorhidrato.

[0044] Aún en otra realización de la presente invención, la 4-hidroxiisoleucina se obtiene de una fuente vegetal, preferiblemente *Trigonella foenum graecum*.

[0045] Aún en otra realización de la presente invención, los derivados de 4-hidroxiisoleucina se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, preferiblemente derivados clorhidrato.

[0046] Aún en otra realización de la presente invención, los excipientes se seleccionan entre un grupo compuesto por agentes de granulación, agentes de unión, agentes lubricantes, agentes de desintegración, agentes edulcorantes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, gomas, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes y agentes de esferoidización.

[0047] Aún en otra realización de la presente invención, la composición se formula en una forma de dosis de administración seleccionada entre un grupo compuesto por comprimido, pastilla, gragea, suspensiones acuosas u oleosas, pomada, parche, gel, loción, dentífrico, cápsula, emulsión, cremas, pulverizador, gotas, polvos o gránulos dispersables, emulsión en cápsulas de gel duro o blando, jarabes, elixires, productos fitomedicinales, productos medicinales y alimentos.

[0048] Aún en otra realización de la presente invención, las demás actividades farmacéuticas relacionadas se seleccionan entre el grupo compuesto por relajación muscular y disminución de los efectos secundarios causados por fármacos antipsicóticos.

5 **[0049]** La presente invención también se relaciona con un proceso de preparación de una composición que comprenden trigonelina o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados, opcionalmente junto con excipientes, en la que el proceso comprende las etapas de:

- 10 a) extracción de una solución limpia que contiene trigonelina y 4-hidroxiisoleucina a partir de una fuente vegetal y
 b) opcionalmente, preparación de derivados ácidos de trigonelina y 4-hidroxiisoleucina a partir de la solución limpia y obtención de dicha composición,
 15 en la que la concentración de trigonelina o sus derivados oscila entre el 30 y el 90% y la concentración de 4-hidroxiisoleucina o sus derivados oscila entre el 10 y el 30%.

[0050] Aún en otra realización de la presente invención, los excipientes se seleccionan entre el grupo compuesto por agentes de granulación, agentes de unión, agentes lubricantes, agentes de desintegración, agentes edulcorantes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, gomas, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes y agentes de esferoidización.

20 **[0051]** Aún en otra realización de la presente invención, los derivados se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, preferiblemente derivados clorhidrato.

[0052] La solución limpia se extrae de las plantas *Trigonella foenum graecum* y/o *Coffea arabica*, comprendiendo las etapas de:

- 30 a. descascarillar las semillas de *Trigonella* y/o *Coffea arabica*;
 b. deslipidizar las semillas de *Trigonella* descascarilladas usando hexano como disolvente;
 35 c. pasar una mezcla de disolventes con alcohol alifático y agua a través de las semillas descascarilladas para extraer el disolvente
 que contiene trigonelina y aminoácidos;
 40 d. concentrar al vacío el disolvente para obtener una masa semisólida;
 e. disolver la masa semisólida en agua desionizada para obtener una solución limpia;
 45 f. pasar la solución limpia de la etapa (e) a través de una resina de intercambio iónico para retener los aminoácidos y la trigonelina;
 g. eluir la columna y concentrar el eluido para obtener la masa resultante;
 50 h. secar la solución limpia de la masa resultante para obtener un polvo granulado y
 i. disolver el polvo en un disolvente para obtener dicha solución limpia que contiene trigonelina y aminoácidos.

[0053] Aún en otra realización de la presente invención, las semillas se descascarillan preferiblemente hasta un tamaño de aproximadamente 2 mm de espesor.

55 **[0054]** La mezcla de disolventes comprende un alcohol alifático y agua en una proporción de 1:9 a 9:1, preferiblemente 7:3.

[0055] Aún en otra realización de la presente invención, el alcohol alifático es etanol.

60 **[0056]** Aun en otra realización de la presente invención, la columna se eluye con una solución acuosa o alcohólica de amoníaco.

5 [0057] Aún en otra realización de la presente invención, el disolvente se selecciona entre el grupo compuesto por compuestos aromáticos heterocíclicos, compuestos alifáticos, cetonas, cianidas, alcoholes, nitrilos, ésteres, éter y mezclas de uno o más de estos.

[0058] Aún en otra realización de la presente invención, el alcohol alifático es etanol.

10 [0059] Aún en otra realización de la presente invención, la concentración se realiza a una temperatura que oscila de 40 a 80°C.

[0060] Aún en otra realización de la presente invención, el aminoácido es 4-hidroxiisoleucina.

15 [0061] La presente invención también se relaciona con el uso de una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados, opcionalmente junto con excipientes para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson en un sujeto que necesita de dicho tratamiento.

[0062] Aún en otra realización de la presente invención, el sujeto es un animal, incluido un ser humano.

20 [0063] La presente invención también se refiere al uso de una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes en el tratamiento de los efectos secundarios provocados antagonistas de receptores de dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento, donde los efectos secundarios son trastornos de movimiento causados por el bloqueo de receptores de dopamina por antagonistas de receptores de dopamina.

25 [0064] Aún en otra realización de la presente invención, el sujeto es un animal, incluido un ser humano.

30 [0065] Un posible uso es el uso de una composición para el fabricación de un medicamento con actividades dopaminérgicas, que comprende trigonelina, sus derivados, 4-hidroxiisoleucina, sus derivados y, opcionalmente, con excipientes. La trigonelina puede derivar de fuentes botánicas vegetales y animales. Esta composición se utiliza para aumentar la concentración de dopamina en el cerebro y, por tanto, mejorar las afecciones asociadas con bajos niveles de dopamina, como enfermedad de Parkinson, trastornos de movimiento, etc. Esta composición se usa para actividades relacionadas con la inhibición de prolactina, detención de la lactancia, relajación muscular, disminución de la función sexual, aumento de la atención mental y otras funciones relacionadas con dopamina. Otro aspecto de este uso es que la composición que tiene actividad dopaminérgica es un inhibidor selectivo de la monoamino oxidasa B. Otro aspecto de la presente invención es que la composición que tiene actividad dopaminérgica no presente interacción con sustancias que contienen tiramina y, por tanto, no aumenta la presión arterial cuando el sujeto ingiere materiales con altos niveles de tiramina.

40 [0066] La composición de la presente invención que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes se refiere también en este documento como fármaco en estudio, compuesto de ensayo o composición farmacéutica de ensayo en la memoria descriptiva.

45 [0067] La principal ventaja de las presentes realizaciones de la presente invención es que el fármaco en estudio es un inhibidor de la monoaminoxidasa B. Debido a esta selectividad no se produce una respuesta con la tiramina de la dieta, por lo que se previene la «reacción al queso» que es un efecto secundario principal de los inhibidores de la MAO no selectivos. Una segunda ventaja es el hecho de que esta composición con actividad dopaminérgica puede reducir los efectos secundarios de los fármacos antipsicóticos. En tercer lugar, esta composición también pueden inhibir la secreción de prolactina que es una ventaja principal.

50 [0068] En la presente invención se describe en detalle el procedimiento para el aislamiento y purificación de un marcador químico a partir de especies vegetales como *Trigonella foenum graecum* y *Coffea arabica* (nombre botánico). El marcador químico es el alcaloide trigonelina y se extrae como su derivado clorhidrato, acetato, citrato, sulfonato, mesilato, hidroyoduro, benzoato o una sal de un ácido tanto mineral como orgánico, aunque preferiblemente como clorhidrato. Se estudia la bioactividad de este extracto purificado en diversos modelos animales clásicos. Un nuevo aspecto de esta composición es que tiene una actividad similar a dopamina según se confirma en diversos experimentos animales específicos según protocolos aprobados. Por tanto, en esta invención se ha comprobado por primera vez que el compuesto trigonelina muestra actividad dopaminérgica.

60 [0069] El resumen breve de una realización es:

a. Las semillas que contienen trigonelina, por ejemplo, las semillas de fenogreco o las semillas de *Coffea arabica*, se descascarilla para exponer el núcleo interno de modo que se asegure una deslipidización, extracción y

procesamiento eficaces.

b. El disolvente hexano se pasa repetidamente a través del lecho de fenogreco para obtener una deslipidización eficaz del fenogreco. No es necesario realizar esta operación con las semillas de *Coffea arabica*.

c. Las semillas deslipidizadas se cargan en un percolador y se hace pasar una mezcla de disolventes que comprende un alcohol alifático y agua a través de la capa para conseguir una extracción eficaz de trigonelina y aminoácidos (4-hidroxiisoleucina) junto con saponina.

d. El disolvente se concentra al vacío a temperaturas más bajas para asegurar la integridad de la masa y la masa resultante se disuelve en agua desionizada para obtener una solución limpia.

e. La solución limpia obtenida de este modo se hace pasar a través de una resina de intercambio catiónico con un ácido fuerte en forma de gel para retener los aminoácidos y la trigonelina.

f. La columna se lava para eliminar todas las impurezas y material con color usando agua desionizada y se eluye con una solución acuosa o solución alcohólica de amoníaco con una la fuerza de una concentración 5M.

g. El compuesto eluido en el disolvente de elución se concentra al vacío para eliminar el agua y el disolvente, y la masa resultante se disuelve y filtra para obtener una solución limpia.

h. La solución limpia obtenida se seca por pulverización para obtener un polvo granulado que puede utilizarse como tal.

i. El polvo se disuelve de nuevo en alcohol isopropílico o en alcohol etílico para obtener una solución limpia.

j. El extracto purificado se somete a medición mediante HPLC para confirmar el ensayo.

[0070] Además, la solución alcohólica limpia puede someterse, opcionalmente, a una corriente de gas de cloruro de hidrógeno para convertir la trigonelina y la 4-hidroxiisoleucina en sus respectivos derivados clorhidrato.

[0071] Un extracto purificado del compuesto anterior como trigonelina y/o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina y/o sus derivados se administra a ratones Swiss albinos según el protocolo del haloperidol. Esto induce los síntomas del Parkinson. Este extracto revierte estos síntomas en forma dependiente de dosis lo que confirma la actividad dopaminérgica o similar a dopamina de este extracto.

[0072] Un extracto purificado del compuesto anterior como trigonelina y/o sus derivados y 4-hidroxiisoleucina y/o sus derivados se administra a ratones Swiss albinos para examinar el efecto de este sobre el mecanismo de antagonismo de oxtremorina. Esto confirma una ligera actividad anticolinérgica, que hace que éste sea, preferentemente, apropiado para el tratamiento del Parkinson.

[0073] El efecto de la dopamina combinado con el leve efecto anticolinérgico es la mejor metodología para el tratamiento de los trastornos relacionados con dopamina, como la enfermedad de Parkinson. Pero el Parkinson no solo está relacionado con la eliminación de dopamina, sino que también está causado por el desequilibrio entre dopamina y acetilcolina.

[0074] La dopamina es un precursor de la adrenalina y la noradrenalina. Por tanto, este compuesto puede aumentar la concentración de la adrenalina y aumentar la atención y el rendimiento mental. La dopamina es un neurotransmisor inhibitor. Esto puede controlar los efectos de la acetilcolina. El extracto y el compuesto propuestos pueden usarse con la finalidad de la relajación muscular en la fisiología del ejercicio.

[0075] Las sustancias dopaminérgicas reducen los niveles de la hormona prolactina. La prolactina está implicada en la disfunción sexual. Este compuesto puede usarse para inhibir la prolactina. La prolactina induce la lactancia en madres en este período. Las sustancias dopaminérgicas inhiben la prolactina. Este compuesto puede usarse para inhibir la prolactina.

[0076] En otra realización de la presente invención, la composición que tiene actividad dopaminérgica deriva de fuentes vegetales.

1. Las semillas de fenogreco u otras semillas que contienen trigonelina como las semillas de *Coffea arabica* fueron descascarilladas usando una máquina de descascarillado mediante rodillos hasta un espesor que varía entre 1 y 4 mm. La exposición eficaz del núcleo interior se consiguió mediante el descascarillado hasta un espesor

preferiblemente de 2 mm. Las semillas deslipidizadas se empaquetaron en un extractor al que se ajustó un filtro inferior de tamaño de malla adecuado, preferiblemente de 100 mesh, para asegurarse de que la harina de semillas no se mueve junto con el disolvente. Se permite que el hexano se percole a través de la capa de semillas empaquetada.

5 2. El disolvente percolado se recicla de forma eficaz durante un período de 8 a 10 horas, de modo que la harina de fenogreco resultante esté libre de aceites y lípidos. No es necesario realizar este procedimiento de deslipidización con las semillas de *Coffea arabica*.

10 3. La harina extraída con hexano se extrae de nuevo con una mezcla de disolvente que comprende un alcohol alifático acuoso en una proporción de 1:9 a 9:1. Preferiblemente 7:3 con el disolvente. En el caso de las semillas de *Coffea arabica*, el disolvente alcohol puede reducirse hasta tener una composición mínima de alcohol de nueve partes de agua por una parte de alcohol. Dicho alcohol puede ser alcohol metílico, alcohol etílico, isopropanol y, preferiblemente, etanol como el disolvente alcohólico. La mezcla de alcohol acuosa se pasa desde la parte superior a la inferior a través de la capa de fenogreco en el percolador. El proceso de reciclaje del disolvente se continuó durante un período de tiempo que oscilaba entre 8 y 10 horas, preferiblemente 8 horas, a temperatura ambiente. Se inspecciona visualmente el extracto limpio desde el fondo del percolador antes cualquier partícula en suspensión y se filtra de nuevo, si es necesario.

15 4. El filtrado limpio se concentra al vacío a una temperatura que oscila entre 50 y 75°C, preferiblemente a 55°C, hasta obtener una masa pastosa y el disolvente recuperado. La pasta se disuelve de nuevo en agua desionizada para obtener una solución limpia que consta de aproximadamente el 5% del contenido sólido.

20 5. La solución limpia se pasa a través de una columna con resina de intercambio iónico compuesta por un anión ácido fuerte en forma de gel y se eluye con una solución de amoníaco acuosa 5M. La columna también puede eluirse con una solución de amoníaco alcohólica acuosa, preferiblemente etanol, isopropanol o metanol en una proporción 1:1.

25 6. La solución desabsorbida se concentra al vacío hasta un contenido sólido del 50% y se seca por pulverización en un secador de atomización hasta polvo. Opcionalmente, el polvo obtenido de la forma anterior se disuelve en alcohol etílico o alcohol isopropílico en una proporción 1:20 de polvo con respecto a la proporción de alcohol y, a continuación, se filtra.

30 7. Opcionalmente, el filtrado limpio se enfría a una temperatura inferior entre 0 y 5°C, preferiblemente a 0°C y se pasa una corriente de gas de cloruro de hidrógeno a su través para precipitar la trigonelina y la 4-hidroxiisoleucina así como sus respectivos derivados clorhidrato. Los derivados precipitados se filtran y lavan para eliminar las impurezas y se secan al vacío entre 60 y 90°C.

35 [0077] La invención se elabora adicionalmente con ayuda de los siguientes ejemplos: Sin embargo, estos ejemplos no deberían interpretarse como una limitación de la invención.

Ejemplo 1:

40 [0078] Se descascarillaron 1.000 gramos de semillas de fenogreco que tenían un contenido en humedad menor del 5% en un descascarillador de rodillo hasta un espesor de 2 mm. El material descascarillado se cargó en una columna que tenía una altura de lecho de 300 mm. Se pasaron 5 litros de hexano a través de la capa de fenogreco y el eluyente recogido de la parte inferior se recicla a través de la capa de fenogreco durante un período de 10 h a 35°C. Después de 10 horas, la capa de fenogreco estaba libre de hexano. Se pasó una mezcla de disolventes (8 litros) que contenía alcohol isopropílico y agua en una proporción 4:1 a través de la capa durante un período de 8 horas a 35°C reciclando el eluyente. Tras las 8 horas, el lecho de fenogreco no contenía extractos y todos los extractos recogidos se concentraron en una masa semisólida al vacío a 50°C.

50 [0079] La masa concentrada se disolvió de nuevo en 5 litros de agua desionizada para obtener una solución limpia. La solución acuosa limpia se pasó a través de una columna que contenía 400 ml de resina tipo gel de intercambio catiónico con un ácido fuerte durante 2 horas. Se realizó un análisis por TLC sobre ausencia de trigonelina comprobada en el eluyente de la columna usando un sistema compuesto por n-butanol: ácido acético: agua en una proporción de 12: 8: 4 como fase móvil en placa de gel de sílice F254 previamente cubiertas (1.05554.007) y se realizó la observación con luz UV de 254 nm. Tras la saturación de la columna, el lecho de resina se limpió de material con color y de impurezas adherentes usando 4 litros de agua desionizada. La columna se desabsorbió usando 800 ml de amoníaco acuoso a una concentración 5 M y con un flujo de 400 ml por hora. La mezcla eluída se concentró al vacío a 45°C hasta una masa semisólida.

55 60

[0080] La masa seca se disolvió de nuevo en 150 ml de agua desionizada y se eliminó el material insoluble mediante filtración. La solución se concentró al vacío a 50°C hasta obtener un contenido sólido del 20% y se seca por pulverización en un deshidratador de aspiración en caliente indirecto concurrente en las siguientes condiciones.

5 Temperatura interna: 160°C

Temperatura externa: 80°C

RPM del atomizador: 12.000

10

El rendimiento es de 9 gramos. (el HPLC mostró el 25% de trigonelina y el 35% de aminoácidos).

[0081] El material anterior se disuelve de nuevo en 250 ml de alcohol etílico, se filtra a través de papel de filtro n.º 41 de Whatmann y se enfría a 0°C. A esta temperatura, se pasa una corriente seca de gas de cloruro de hidrógeno a través de este para precipitar el clorhidrato de trigonelina. El precipitado se eliminó por filtración en papel de filtro y se lavó con alcohol etílico frío y se secó al vacío a 60°C.

15

Ejemplo 2:

[0082] Se descascarillaron 1.000 gramos de semillas de fenogreco que tenían un contenido en humedad menor del 5% en un descascarillador de rodillo hasta un espesor de 2 mm. El material descascarillado se cargó en una columna que tenía una altura de lecho de 300 mm. Se pasaron 5 litros de hexano a través de la capa de fenogreco y el eluyente recogido de la parte inferior se recicló a través de la capa de fenogreco durante un período de 10 horas a 35°C. Después de las 10 horas, la capa de fenogreco estaba libre de hexano. Se pasó una mezcla de disolventes (8 litros) que comprendía alcohol isopropílico y agua en una proporción 4:1 a través de la capa durante un período de 8 horas a 35°C reciclando el eluyente. Tras las 8 horas, el lecho de fenogreco no contenía extractos y todos los extractos recogidos se concentraron en una masa semisólida al vacío a 50°C.

20

25

[0083] La masa concentrada se disolvió de nuevo en 5 litros de agua desionizada para obtener una solución limpia. La solución acuosa limpia se pasó a través de una columna que contenía 400 ml de resina tipo gel del intercambio catiónico con un ácido fuerte durante 2 horas. Se realizó un análisis por TLC sobre ausencia de trigonelina comprobada en el eluyente de la columna usando un sistema compuesto por n-butanol: ácido acético: agua en una proporción de 12: 8: 4 como fase móvil en placa de gel de sílice F254 previamente cubiertas (1.05554.007) y se realizó la observación con luz UV de 254 nm. Tras la saturación de la columna, el lecho de resina se limpió de material con color y de impurezas adherentes usando 4 litros de agua desionizada. La columna se desabsorbió usando 800 ml de amoníaco acuoso a una concentración 5 M y con un flujo de 400 ml por hora. La mezcla eluída se concentró al vacío a 45°C hasta una masa semisólida.

30

35

[0084] La masa seca se disolvió de nuevo en 150 ml de agua desionizada y se eliminó el material insoluble mediante filtración. La solución se concentró al vacío a 50°C hasta obtener un contenido sólido del 20% y se seca por pulverización en un deshidratador de aspiración en caliente indirecto concurrente en las siguientes condiciones.

40

Temperatura interna: 160°C

45 Temperatura externa: 80°C

RPM del atomizador: 12.000

El rendimiento es de 9 gramos (el HPLC mostraba el 35% de trigonelina y el 20% de 4-hidroxiisoleucina).

50

Ejemplo 3:

[0085] Se descascarillaron 1.000 gramos de semillas de fenogreco que tenían un contenido en humedad menor del 5% en un descascarillador de rodillo hasta un espesor de 2 mm. El material descascarillado se cargó en una columna que tenía una altura de lecho de 300 mm. Se pasaron 5 litros de hexano a través de la capa de fenogreco y el eluyente recogido de la parte inferior se recicló a través de la capa de fenogreco durante un período de 10 horas a 35°C. Después de las 10 horas, la capa de fenogreco estaba libre de hexano. Se pasó una mezcla de disolventes (8 litros) que comprendía alcohol etílico y agua en una proporción 3,5:1 a través de la capa durante un período de 8 horas a 35°C reciclando el eluyente. Tras las 8 horas, el lecho de fenogreco no contenía extractos y todos los extractos recogidos se concentraron en una masa semisólida al vacío a 50°C.

55

60

[0086] La masa concentrada se disolvió de nuevo en 5 litros de agua desionizada para obtener una solución

limpia. La solución acuosa limpia se pasó a través de una columna que contenía 400 ml de resina tipo gel del intercambio catiónico con un ácido fuerte durante 2 horas. Se realizó un análisis por TLC sobre ausencia de trigonelina comprobada en el eluyente de la columna usando un sistema compuesto por n-butanol: ácido acético: agua en una proporción de 12: 8: 4 como fase móvil en placas previamente cubiertas de gel de sílice F254 (1.05554.007) y se realizó la observación con luz UV de 254 nm. Tras la saturación de la columna, el lecho de resina se limpió de material con color y de impurezas adherentes usando 4 litros de agua desionizada. La columna se desabsorbió usando 800 ml de amoníaco acuoso a una concentración 5 M y con un flujo de 400 ml por hora. La mezcla eluída se concentró al vacío a 45°C hasta una masa semisólida.

10 **[0087]** La masa seca se disolvió de nuevo en 150 ml de agua desionizada y se eliminó el material insoluble mediante filtración. La solución se concentró al vacío a 50°C hasta obtener un contenido sólido del 20% y se seca por pulverización en un deshidratador de aspiración en caliente indirecto concurrente en las siguientes condiciones.

15 Temperatura interna: 160°C

Temperatura externa: 80°C

RPM del atomizador: 1.2000

20 **[0088]** El rendimiento es de 10 gramos. (el HPLC mostró el 35% de trigonelina y el 18% de aminoácido 4-hidroxiisoleucina).

25 **[0089]** El material anterior se disuelve de nuevo en 250 ml de alcohol etílico, se filtra a través de papel de filtro n.º 41 de Whatmann y se enfría a 0°C. Se pasa una corriente seca de gas cloruro de hidrógeno a través de este para precipitar el clorhidrato de trigonelina. El precipitado se eliminó por filtración en papel de filtro, se lavó con alcohol etílico frío y se secó al vacío a 60°C.

Ejemplo 4:

30 **[0090]** Se descascarillaron 1.000 gramos de semillas de *Coffea arabica* verdes con un contenido en agua menor del 15% en un descascarillador de rodilla hasta un espesor de 2 mm. El material descascarillado se cargó en una columna que tenía una altura de lecho de 500 mm. Se pasaron una mezcla de disolventes (8 litros) que comprendía agua y alcohol etílico en la proporción de 9:1 a través de la cada durante un período de 8 horas a 35°C reciclando el eluyente. Tras las 8 horas, el lecho de fenogreco no contenía extractos y todos los extractos recogidos se concentrado en una masa semisólida al vacío a 50°C.

40 **[0091]** La masa concentrada se disolvió de nuevo en 5 litros de agua desionizada para obtener una solución limpia. La solución acuosa limpia se pasó a través de una columna que contenía 400 ml de resina tipo gel del intercambio catiónico con un ácido fuerte durante 2 horas. Se realizó un análisis por TLC sobre ausencia de trigonelina comprobada en el eluyente de la columna usando un sistema compuesto por n-butanol: ácido acético: agua en una proporción de 12.8:4 como fase móvil en placas previamente cubiertas de gel de sílice F254 (1.05554.007) y se realizó la observación con luz UV de 254 nm. Tras la saturación de la columna, el lecho de resina se limpió de material con color y de impurezas adherentes usando 4 litros de agua desionizada. La columna se desabsorbió usando 800 ml de amoníaco acuoso a una concentración 5 M y con un flujo de 400 ml por hora. La mezcla eluída se concentró al vacío a 45°C hasta una masa semisólida.

50 **[0092]** La masa seca se disolvió de nuevo en 150 ml de agua desionizada y se eliminó el material insoluble mediante filtración. La solución se concentró al vacío a 50°C hasta obtener un contenido sólido del 20% y se seca por pulverización en un deshidratador de aspiración en caliente indirecto concurrente en las siguientes condiciones.

Temperatura interna: 160°C

Temperatura externa: 80°C

55 RPM del atomizador: 1.2000

El rendimiento es de 5 gramos. (el HPLC mostró el 60 % de trigonelina y el 35% de aminoácidos).

60 **[0093]** El material anterior se disuelve de nuevo en 200 ml de alcohol etílico, se filtra a través de papel de filtro n.º 41 de Whatmann y se enfría a 0°C. Se pasa una corriente seca de gas cloruro de hidrógeno a través de este para precipitar el clorhidrato de trigonelina. El precipitado se eliminó por filtración en papel de filtro y se lavó con alcohol etílico frío y se secó al vacío a 60°C.

Ejemplo 5:

[0094] Se redujeron a polvo 1.000 gramos de semillas de *Coffea arabica* verde sin pergamino en un molinillo triturador hasta el 100% pasando a través de un filtro de 20 mesh de tamaño. Las semillas rotas se cuecen en 6 litros de agua desionizada a 95-100°C durante 4 horas y se filtran para eliminar todo el material insoluble a través de un filtro de tela. La solución limpia se enfría a temperatura ambiente y se pasa a través de una columna de resina de intercambio iónico que contiene 500 ml de resina de intercambio iónico con un ácido fuerte recién regenerada durante un período de 3 horas. Se controló en el eluyente inferior la ausencia de trigonelina usando un sistema de TLC que contiene N-butanol: ácido acético: agua en una proporción de 10: 8: 5 y la visualización mediante luz UV a 254 nm.

[0095] La columna se lavó para eliminar todo el material con color y las impurezas usando 5 litros de agua desmaterializada. La columna se eluye con 600 ml de una solución de amoníaco al 6% y se comprobó que la elución había finalizado usando el sistema de TLC mencionado previamente. El líquido eluido se concentra a 50°C al vacío hasta obtener una pasta. La pasta se tritura con 100 ml de gas de ácido clorhídrico al 20%, en alcohol isopropílico a 75°C durante 3 horas y se enfrió a temperatura ambiente. El precipitado resultante se filtra y lava hasta eliminar el material de color con 500 ml de alcohol isopropílico. El sólido se seca a 80°C al vacío para obtener 10 gramos de polvo granulado.

[0096] Los ejemplos siguientes se realizaron con la nueva composición que comprende trigonelina y 4-HI así como con el derivado de trigonelina (clorhidrato) y el derivado de 4-HI (clorhidrato).

Ejemplo 6: Catalepsia inducida por haloperidol en ratones.

[0097] El haloperidol es un agente neuroléptico que bloquea el receptor de dopamina D2 en el cerebro. Este precipita los efectos secundarios extrapiramidales que pueden medirse mediante el «test de reacción de actividad biológico para la catalepsia en ratones». La catalepsia en ratones se define como un fallo en la corrección de una postura inusual externamente impuesta durante un periodo temporal prolongado. Esta catalepsia en ratones es comparable a la acinesia, rigidez muscular y temblores observados en sujetos con enfermedad de Parkinson. La catalepsia inducida por haloperidol puede revertirse si los fármacos dopaminérgicos que suministran dopamina al cuerpo estriado del cerebro desde ese momento aumentan el antagonismo competitivo.

[0098] Procedimiento: Se usan ratones Swiss albinos de ambos sexos con peso de 23-28 g. Se induce la catalepsia mediante haloperidol (0,5 mg/kg i.p.) y se valora mediante una test de reacción de actividad biológica antes de 3 horas. Se trata a seis animales con la solución salina, el fármaco en estudio y el patrón por vía intraperitoneal. Los animales se colocan en jaulas de plástico translúcidas con un cilindro de madera montado horizontalmente a 2,5 cm del suelo de la jaula. Se deja que los animales se adapten a la jaula durante 2 min. A continuación, se sujeta a cada animal con cuidado alrededor de los hombros y por debajo de las uñas y se coloca con cuidado sobre el cilindro. Se determina la cantidad de tiempo que pasa con al menos una uña sobre la barra. Cuando el animal retira la pata, se registra el tiempo y el animal se coloca de nuevo sobre la barra. Se realizan tres pruebas con cada animal a los 30, 60, 120, y 360 min, con 6 animales en cada grupo.

[0099] El fármaco en estudio ha mostrado una respuesta dependiente de dosis significativa en cuanto a la reducción de la catalepsia (Fig. 1). Se encontró que los efectos del fármaco convencional L-Dopa a dosis de 10 mg/kg eran más eficaces que el fármaco en estudio a dosis de 100 mg/kg. Aunque esta diferencia es significativa, se comprobó que el fármaco en estudio actúa más rápidamente y evita la acción de síntomas controlados y no controlados que se presenta en los fármacos convencionales. El fármaco convencional también mostró una disminución en la reducción de la catalepsia tras el efecto inicial sobre la catalepsia. Esto confirma la acción dopaminérgica del fármaco en estudio (Fig. 1). Por tanto, puede observarse que el fármaco en estudio revierte los síntomas de Parkinson inducidos por el haloperidol.

[0100] La reversión de la catalepsia inducida por haloperidol confirma la capacidad de la composición del fármaco en estudio para minimizar los efectos secundarios producidos por el haloperidol que es un antagonista de los receptores de dopamina. Por tanto, esto muestra que el fármaco en un agente dopaminérgico que puede utilizarse para minimizar los efectos de los antagonistas de receptores de dopamina, incluso los fármacos antipsicóticos.

Ejemplo 7: Antagonismo de oxotremorina

[0101] La oxotremorina es un fármaco colinérgico que es un agonista muscarínico e induce signos similares al parkinson como temblores, ataxia, espasticidad, salivación, lacrimación e hipotermia. Las oxotremorina es un

fármaco colinérgico que puede inducir temblores excesivos en ratones. Si un fármaco tiene una propiedad anticolinérgica similar a la atropina, los temblores disminuirán.

5 **[0102]** Procedimiento: Se usan grupos de 6-10 ratones NMRI machos con un peso de 18-22 g Se le administra por vía oral el compuesto del estudio o el patrón (5 mg/kg de mesilato de benezatropina) 1 hora antes de la administración de 0,5 mg/kg de oxotremorina. Los temblores se puntúan después de la administración de oxotremorina en periodos de 5 min durante 1 hora.

10 **[0103]** Tras la administración de 0,5 mg/kg de oxotremorina, los temblores se inician antes 15 minutos y se mantienen durante 30 minutos.

Parámetros:

[0104]

Puntuación de temblores		Salivación y lacrimación 30 minutos después de la inyección de oxotremorina	
Ausentes	0	Ausentes	0
Ligeros	1	Ligeras	1
Medios	2	Medias	2
Intensos	3	Intensas	3
N.º de animales utilizados en cada grupo, n = 6			

15

Puntuación de temblores

[0105]

Categoría	Puntuación de temblores a 5 minutos	Puntuación de temblores a 10 minutos	Puntuación de temblores a 30 minutos	Puntuación de temblores a 45 minutos
Grupo control solo con oxitremorina n = 6	3,0	2,8	2,7	2,6
Grupo de compuesto en estudio a 30 mg/kg y oxitremorina n = 6	2,7	2,6	2,5	2,5
Grupo de compuesto en estudio con 100 mg/kg y oxitremorina n = 6	1,6	1,6	1,8	1,9
Grupo de compuesto en estudio con 200 mg/kg y oxitremorina n = 6	1,6	1,6	1,7	1,6
Control positivo atropina 5 mg/kg y oxitremorina n = 6	0,9	0,9	1,0	1,3

20

[0106] El compuesto en estudio ha mostrado una actividad significativa disminuyendo la puntuación de temblores a dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg. Esta actividad es constante y se mantiene hasta los 45 minutos. La actividad a 30 mg/kg es baja. El control positivo atropina tiene la actividad ensayada aunque disminuye con el tiempo. Por tanto, el fármaco en estudio revierte los síntomas del Parkinson mediante una actividad anticolinérgica leve.

25

Puntuación de salivación y lacrimación**[0107]**

5

Categoría	Puntuación de salivación a 30 minutos	Puntuación de lacrimación a 30 minutos
Grupo control sólo con oxitremorina n = 6	3,0	2,9
Compuesto en estudio a 30 mg/kg	2,5	2,6
Compuesto en estudio a 100 mg/kg	1,6	1,7
Atropina	0,8	0,6

[0108] El compuesto en estudio ha mostrado una reducción en la puntuación de salivación. Sin embargo, no es tan potente como la atropina lo que indica, por tanto, un efecto anticolinérgico suave. También se observó reducción de la lacrimación. Sin embargo, no es tan potente como con la atropina.

10

[0109] La atropina a 1 mg/kg y el fármaco en estudio a 100, 200 y 400 mg/kg producen una disminución significativa de la intensidad de los temblores (Fig 2) y es significativa a dosis de 30 mg/kg. El fármaco muestra un efecto máximo a los 30 min y empieza la reversión después de 45 min. Por tanto, el fármaco en estudio tiene propiedades anticolinérgicas a dosis muy altas.

15

Ejemplo 8: Modelo de 6-hidroxidopamina

[0110] La 6-hidroxidopamina (6-OHDA) es una neurotoxina que provoca una lesión unilateral de la vía nigroestriada dopaminérgica que induce la hipersensibilidad del receptor dopaminérgico postsináptico en el cuerpo estriado del lado lesionado. Cuando se administra un compuesto de actuación indirecta similar a la amfetamina los ratones se giran hacia el sitio lesionado (ipsilateral) en oposición a cuando se administra un fármaco dopaminérgico de acción directa que hace que entonces se giren contralateralmente. Por tanto, esta prueba puede usarse para el estudio de la función central de la dopamina y la evaluación de antagonistas y agonistas de dopamina, especialmente, para la actividad de nuevos fármacos antiparkinsonianos. Esta prueba distingue con claridad entre fármacos predominantemente con actividad agonista de receptores de dopamina de aquellos predominantemente con actividad del fármaco de liberación de dopamina.

20

25

[0111] Procedimiento: En el momento de la cirugía se utilizaron ratas Wistar machos de 200-250 gramos de peso. Se alojaron individualmente en un entorno controlado con acceso libre a comida y agua. Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico. La cabeza se coloca en un dispositivo estereotáctico (DKI 900) y se coloca según el atlas de König y Klippel. Después de realizar un corte sagital en la piel del cuero cabelludo, se realiza un agujero de 2 mm de ancho con un taladro eléctrico para trepanación. Debe tenerse cuidado para no lesionar las meninges. Se dirige una cánula de acero inoxidable de calibre 30 conectada a una jeringa Hamilton a la zona anterior compacta de la sustancia nigra (coordenadas anterior 1,88 mm, lateral 2,0 mm y dorso-ventral 8,2 mm, con respecto al cero del instrumento). Se inyectan un total de 8 µg de 6-HAD en 4 µl de solución salina a un flujo de 1 µl/min. Tras la inyección intracraneal, se cierra la herida.

30

35

[0112] Se deja al animal durante varias semanas para que se recupere y para el desarrollo de la lesión. Esferas de plástico opaco especialmente construidas unidas a un equipo de programación en estado sólido sirven como cámaras de prueba. El número de giros completos, tanto ipsilaterales como contralaterales con respecto a la lesión, se registra en un contador automático con impresora cada 15 minutos durante sesiones de prueba de una o dos horas. Para determinar los valores control para los giros ipsilaterales, se administran a cada animal 2,5 mg/kg de amfetamina e, inmediatamente, se colocan en la jaula circular durante 2 horas. Los valores control para los giros contralaterales se determinan mediante la inyección de apomorfina a 1 mg/kg s.c. y se registran los giros de la rata durante 1 hora. Los compuestos del estudio se administran por vía i.p. o s.c. Y los animales se colocan en jaulas circulares. Los giros se registran durante un periodo de 1 hora. Este experimento se realiza en 30 animales y la media se representa en la tabla.

40

45

[0113]

Fármaco y dosis	Rotación contralateral	Rotación ipsilateral
Agua estéril	1	0,33
Fármaco en estudio (10 mg/kg)	0,67	5,33
Fármaco en estudio (30 mg/kg)	0,83	30,67
Fármaco en estudio (100 mg/kg)	0,35	10,4
Apomorfina (0,3 mg/kg)	169,33	0,67
L-Dopa (10 mg/kg)	45,67	0,83

5 [0114] El fármaco en estudio inducía rotaciones ipsilaterales significativas a dosis de 30 mg/kg ($p < 0,001$) y 10 mg/kg ($p < 0,05$). Esta prueba mimetiza la depleción de dopamina y, por consiguiente, la enfermedad de Parkinson. Los compuestos contra el Parkinson pueden inducir rotación contralateral o ipsilateral. Los fármacos como la anfetamina inducen rotación ipsilateral. Mientras que fármacos como L-Dopa, apomorfina y bromocriptina inducen rotación contralateral. Los inhibidores de la monoamino oxidasa B como selgilina inducen rotación ipsilateral. Los inhibidores de COMT inducen rotación contralateral.

10 [0115] El fármaco en estudio se comporta como una anfetamina o inhibidor de la monoaminoxidasa (MAO-B). Por tanto, el fármaco en estudio puede tener la propiedad de liberar dopamina que es significativa en comparación con el control a estas dosis.

15 [0116] Este modelo es importante para determinar si un compuesto es dopaminérgico o es de los que actúan sobre los receptores de dopamina. La rotación ipsilateral con el compuesto del estudio muestra su actividad dopaminérgica. A diferencia de la clase de fármacos actual que muestra una rotación contralateral, el compuesto en estudio es un agente dopaminérgico y no un agonista del receptor.

20 [0117] Este experimento prueba la actividad dopaminérgica exclusiva del fármaco en estudio. Puesto que esta composición dopaminérgica puede encontrar aplicaciones relacionadas con el aumento de los niveles de dopamina. El aumento de los niveles de dopamina tiene un efecto inhibitorio sobre los niveles de prolactina. El aumento de los niveles de prolactina es una de las causas del SOPQ y de la infertilidad. Este compuesto dopaminérgico inhibe los niveles de prolactina aumentando los niveles de dopamina.

25 [0118] Este compuesto dopaminérgico también encuentra aplicaciones como relajante muscular.

30 Ejemplo 9: Comprobación de los efectos del fármaco de estudio sobre ratones tratados con MPTP

[0119] En esta prueba se determina el grado del efecto sobre la actividad locomotora de ratones tratados con MPTP (metil fenil tetrapiridina) cuando se tratan previa o posteriormente con el fármaco en estudio.

35 [0120] Cuando MPTP se administra a través de la ruta sistémica se produce una alteración transitoria de la función del sistema dopaminérgico. Esta prueba ayuda a determinar la fisiopatología de los procesos neurodegenerativos así como los efectos de los agentes neurotróficos y neuroprotectores.

40 [0121] MPTP disminuye significativamente la actividad locomotora de los ratones. La eficacia del fármaco en estudio se mide en función del aumento del porcentaje de la actividad motora en los ratones tratados con MPTP.

[0122] La actividad locomotora se mide en términos de:

1. Actividad motora espontánea

Tratamiento	Media \pm ETM	% de aumento
Sin tratar	868,166 \pm 17,377	-
MPTP	290,166 \pm 18,679 ^{###}	-
Fármaco en estudio (pre): Profilático	564,166 \pm 24,106 ^{***}	94,43%
Fármaco en estudio (post): Terapéutico	280,500 \pm 23,891 ^{ns}	~3,33%

45 El tratamiento previo de los ratones con el fármaco en estudio reducía significativamente el efecto de MPTP. Aunque el tratamiento previo daba buenos resultados, el tratamiento de los ratones con el fármaco en estudio después del tratamiento con MPTP no mostraba aumento de la actividad motora.

2. Número de cuadros cruzados en un campo abierto

Tratamiento	Media \pm ETM	% de aumento
Sin tratar	465,500 \pm 18,005	-
MPTP	122,333 \pm 8,151 ^{###}	-
Fármaco en estudio (pre): Profilático	250,166 \pm 12,908 ^{***}	104,49%
Fármaco en estudio (post): Terapéutico	143,166 \pm 12,457 ^{ns}	17,03%

- 5 El tratamiento previo con el fármaco en estudio aumentaba drásticamente el número de cuadros cruzados por los ratones mientras que el tratamiento posterior con el fármaco en estudio no mostraba un aumento muy significativo.

3. Distancia total recorrida en un campo abierto

Tratamiento	Media \pm ETM	% de aumento
Sin tratar	698,250 \pm 27,008	-
MPTP	183,500 \pm 12,227 ^{###}	-
Fármaco en estudio (pre): Profilático	375,250 \pm 19,363 ^{***}	104,49%
Fármaco en estudio (post): Terapéutico	214,750 \pm 18,713 ^{ns}	17,03%

- 10 El tratamiento previo con el fármaco en estudio aumentaba drásticamente la distancia recorrida por los ratones mientras que el tratamiento posterior con el fármaco en estudio no mostraba un aumento muy significativo.

4. Tiempo total de movimiento en un campo abierto

Tratamiento	Media \pm ETM	% de aumento
Sin tratar	233,420 \pm 7,322	-
MPTP	217,330 \pm 8,979	-
Fármaco en estudio (pre): Profilático	235,350 \pm 9,001	8,29%
Fármaco en estudio (post): Terapéutico	242,790 \pm 13,503	11,71 %

- 15 No se observaron variaciones de tiempo significativas durante el tratamiento previo y posterior con el fármaco en estudio sobre los ratones tratados con MPTP.

5. Velocidad media en un campo abierto

Tratamiento	Media \pm ETM	% de aumento
Sin tratar	2,999 \pm 0,124	-
MPTP	0,840 \pm 0,051	-
Fármaco en estudio (pre): Profilático	1,595 \pm 0,059 ^{***}	88,53%
Fármaco en estudio (post): Terapéutico	0,890 \pm 0,079 ^{ns}	5,2%

- 20 El tratamiento previo de los ratones con el fármaco en estudio aumentaba significativamente la velocidad media de los ratones, mientras que el tratamiento posterior no mostraba aumento de la velocidad.

[0123] Por tanto, mediante los experimentos anteriores se observó que la composición preparada mediante el proceso mencionado anteriormente tiene una potente actividad dopaminérgica y es un inhibidor de MAO. Esta dosificación óptima del fármaco no muestra actividad anticolinérgica, lo que se observa a dosis muy altas del fármaco.

Ejemplo 10: Efecto del fármaco en estudio sobre la potenciación de tiramina

- 30 [0124] Cuando se usan inhibidores de MAO no selectivos como fármacos neuropsiquiátricos se produce un estado denominado potenciación de la tiramina. La tiramina es un aminoácido que es un precursor de la monoamina noradrenalina. La monoamino oxidasa-A (MAO-A) es una enzima que previene la conversión de tiramina en noradrenalina. Por tanto, en presencia de fármacos que actúan como inhibidores de la MAO-A, los niveles de noradrenalina son elevados. La mayoría de los alimentos fermentados como queso, vino, etc., tienen un alto porcentaje de tiramina. Por tanto, cuando un sujeto que está tomando inhibidores MAO-A ingiere alimentos de este tipo, se produce una elevación repentina del nivel de tiramina y, posteriormente, también se elevan los niveles de noradrenalina. Este aumento repentino del nivel de noradrenalina aumenta drásticamente la presión arterial y pueden producirse consecuencias mortales.

- 40 [0125] La prueba de potenciación de tiramina se realiza para determinar la selectividad del fármaco en estudio para MAO-A/B. Para una determinación precisa de esta prueba, el estudio se realizó en un entorno del fármaco

agudo y cónico.

Estudio agudo:

5 **[0126]** En el estudio agudo, se usaron ratas Wistar macho (n=5) que se anestesiaron mediante inyección de una solución de uretano (1,25 g/kg, i.p.). La temperatura corporal se mantuvo a 37°C y se canuló la tráquea para mantener abiertas las vías respiratorias. (Presión arterial) se insertaron aparatos en las cánulas hasta la arteria carótida izquierda y la vena yugular para controlar la presión arterial (PA) y la administración del fármaco, respectivamente. El catéter arterial se conectó a un transductor de presión para medir la presión sanguínea usando sistemas de registro fisiológico de cuatro canales. Se registraron los efectos del fármaco en estudio (30 mg/kg p.o.) sobre la tiramina (5 mg/kg, i.v.) (Fig. 3).

[0127] El estudio realizado tenía 3 grupos:

15 Grupo 1: Normal

Grupo 2: Tiramina + fármaco en estudio

20 Grupo 3: Solo tiramina

Estudio crónico:

25 **[0128]** El fármaco en estudio (30 mg/kg p.o.) se administró a ratas macho Wistar (n=5) durante un mes. La temperatura corporal se mantuvo a 37°C y se canuló la tráquea para mantener abiertas las vías respiratorias. Se insertaron aparatos en las cánulas hasta la arteria carótida izquierda y la vena yugular para controlar la presión arterial (PA) y la administración del fármaco, respectivamente. El catéter arterial se conectó a un transductor de presión para medir la presión sanguínea usando sistemas de registro fisiológico de cuatro canales. Se registraron los efectos del fármaco en estudio (30 mg/kg p.o.) sobre la tiramina (5 mg/kg, i.v.) (Fig. 4).

30 **[0129]** El estudio realizado tenía 3 grupos:

Grupo 1: Normal

35 Grupo 2: Tiramina + fármaco en estudio

Grupo 3: Solo tiramina

40 **[0130]** Tanto en el estudio agudo como en el crónico, el fármaco en estudio no mostró ninguna elevación de la presión arterial por lo que se estableció que estos no eran inhibidores de MAO-A. La tiramina produce un ligero aumento de la presión arterial, la clase actual de MAOI normalmente causa un aumento drástico de la presión arterial (potenciación de tiramina). Por tanto, a partir de los gráficos obtenidos en los estudios agudo y crónico, se deduce que el fármaco en estudio no potencia el aumento de la presión arterial.

45 **[0131]** Puesto que se considera que el fármaco en estudio es un inhibidor de la MAO-B, que no produce potenciación de la tiramina y no presenta interacción con la tiramina ingerida a partir de los alimentos de la dieta. Esto supone una ventaja principal del fármaco en estudio sobre la clase de fármacos existente.

Ejemplo 11: Evaluación en un ensayo enzimático del fármaco en estudio

50 **[0132]** En la fig. 5 se muestran las curvas de inhibición para este experimento. Estos ensayos enzimáticos se realizaron según las referencias.

• Youdim MB y Finberg JP (1991) New directions in monoamine oxidase A and B selective inhibitors and substrates. *Biochem Pharmacol.* 41(2): 155 -162

55 • Urban P, Andersen JK, Hsu HP y Pompon D (1991) Comparative membrane locations and activities of human monoamine oxidases expressed in yeast. *FEBS Lett.* 286(1-2): 142 -146.

60 **[0133]** En este experimento se mide la capacidad de la composición del fármaco en estudio F-1 en la inhibición de la enzima monoamino oxidasa. Las MAO son enzimas que catalizan la oxidación de monoaminas. En humanos, hay dos tipos de MAO: MAO A y MAO B. Ambas enzimas se encuentran en las neuronas y en la astrogliá así como fueran del SNC.

[0134] Fuera del SNC, se encuentran MAO en:

MAO-A: Hígado, tubo digestivo y placenta

MAO-B: Plaquetas

[0135] Ambas MAO son también vitales para la inactivación de neurotransmisores monoaminérgicos, por lo que muestran especificidades diferentes.

- MAO-A: Degradación de serotonina, norepinefrina (noradrenalina) y epinefrina (adrenalina).

- MAO-B: Degradación de fenetilamina.

[0136] Ambas formas de MAO degradan la dopamina.

[0137] Las presentes clases de inhibidores de MAO normalmente presentan una interacción con los alimentos que tienen niveles elevados de tiramina, como quesos, encurtidos, chocolates, cerveza, vino y determinadas carnes. La interacción de tiramina con MAOI puede provocar un aumento altamente peligroso en la presión arterial que puede inducir un ictus.

[0138] En la figura 5 se muestran las curvas de respuesta que muestran la inhibición selectiva de MAO-B por este compuesto. En esta gráfica se muestra la inhibición de MAO-B por el grupo de fármacos que es muy útil en el tratamiento de enfermedades relacionadas con dopamina, incluyendo la enfermedad de Parkinson.

[0139] El experimento de potenciación de tiramina realizado en el ejemplo 10 muestra que el fármaco en estudio no presenta aumento del efecto sobre la presión arterial y, por tanto, su uso es seguro en sujetos que lo necesiten.

EJEMPLO 12:

[0140] Para dosis en humanos

1) Para la aplicación terapéutica del tratamiento de la enfermedad de Parkinson, una dosis para humanos de 0,5 mg por kg a 20 mg por kg diarios como dosis única o triturada en tres dosis por día iguales.

2) Para dosis terapéutica cuando disminuye el nivel de prolactina, lo que está implicado en la pérdida de la libido y en la disfunción sexual, se recomienda una dosis diaria de 0,5 mg por kg de peso corporal hasta 25 mg por kg de peso corporal como dosis única o triturado en 3 dosis divididas equivalentes.

3) Dosis terapéutica para detener la lactancia en madres que están amantando a sus hijos de 0,5 mg por kg a 20 mg por kg de peso corporal al día.

4) Para la relajación muscular en fisiología del ejercicio, la dosis recomendada es de 0,25 mg por kg a 17 mg por kg de peso corporal.

5) Para potenciar la atención mental y el rendimiento la dosis diaria recomendada es de 0,25 mg por kg a 15 mg por kg de peso corporal.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados, opcionalmente junto con excipientes, para su uso en el tratamiento de una afección asociada con bajos niveles de dopamina seleccionada entre enfermedad de Parkinson y relajación muscular, en la que la concentración de trigonelina o sus derivados oscila entre el 30 y el 90% y la concentración de 4-hidroxiisoleucina o sus derivados oscila entre el 10 y el 30%.
2. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que la trigonelina se obtiene de fuentes vegetales o animales.
3. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que la trigonelina se obtiene de *Trigonella foenum graecum* and *Coffea arabica*.
4. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que los derivados ácidos de trigonelina se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, preferiblemente derivados clorhidrato.
5. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que la 4-hidroxiisoleucina se obtiene de fuente vegetales, preferiblemente de *Trigonella foenum graecum*.
6. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que los derivados ácidos de 4-hidroxiisoleucina se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, preferiblemente derivados clorhidrato.
7. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que los excipientes se seleccionan entre el grupo compuesto por agentes de granulación, agentes de unión, agentes lubricantes, agentes de desintegración, agentes edulcorantes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, gomas, agentes de recubrimiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes y agentes de esferoidización.
8. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1, en la que la composición se formula en forma de dosis de administración seleccionada entre un grupo compuesto por comprimido, pastilla para chupar, gragea, suspensiones acuosas u oleosas, pomada, parche, gel, loción, dentrífico, cápsula, emulsión, cremas, pulverizador, gotas, polvos o gránulos dispersables, emulsión en cápsulas de gel duro o blando, jarabe, elixires, productos fitomedicinales, productos medicinales y alimentos.
9. La composición farmacéutica según se reivindica en la reivindicación 1 para su uso en la disminución de los efectos secundarios producidos por fármacos antipsicóticos.
10. Un proceso de preparación de la composición farmacéutica de la reivindicación 1, en el que el proceso comprende las etapas de: a) extraer una solución limpia que contiene trigonelina y 4-hidroxiisoleucina de una fuente vegetal y b) opcionalmente precipitar derivados ácidos de trigonelina y 4-hidroxiisoleucina a partir de la solución limpia y obtener dicha composición,
- en la que la solución limpia se extrae a partir de las plantas *Trigonella foenum graecum* y/o *Coffea arabica* que comprende las etapas de:
- descascarillar las semillas de *Trigonella* y/o *Coffea arabica*;
 - deslipidizar las semillas de *Trigonella* descascarilladas usando hexano como disolvente;
 - pasar una mezcla de disolvente de alcohol alifático y agua en una proporción 1:9 a 9:1 a través de las semillas descascarilladas para extraer un disolvente que contiene trigonelina y aminoácidos.
 - concentrar al vacío el disolvente para obtener una masa semisólida;
 - disolver la masa semisólida en agua desionizada para obtener una solución limpia;
 - pasar la solución limpia de la etapa (e) a través de una resina de intercambio iónico para retener los aminoácidos y la trigonelina;

- g. eluir la columna y concentrar el eluido para obtener la masa resultante;
- h. secar la solución limpia de la masa resultante para obtener un polvo granulado y
- 5 i. disolver el polvo en un disolvente para obtener dicha solución limpia que contiene trigonelina y aminoácidos.
11. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que los excipientes se seleccionan entre un grupo compuesto por agentes de granulación, agentes de unión, agentes lubricantes, agentes de desintegración, agentes edulcorantes, deslizantes, antiadherentes, agentes antiestáticos, tensioactivos, antioxidantes, gomas, 10 agentes de recubrimiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, conservantes, agentes de suspensión, agentes emulsionantes y agentes de esferoidización.
12. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que los derivados ácidos se seleccionan entre el grupo compuesto por derivados clorhidrato, derivados acetato, derivados citrato y derivados benzoato, 15 preferiblemente derivados clorhidrato.
13. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que las semillas se descascarillan preferiblemente hasta un tamaño de aproximadamente 2 mm de espesor.
- 20 14. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que la proporción entre alcohol alifático y agua en la mezcla de disolventes preferiblemente es 7:3.
15. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que el alcohol alifático es etanol.
- 25 16. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que la columna se eluye con solución acuosa o alcohólica de amoníaco.
17. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que el disolvente se selecciona entre el grupo compuesto por compuestos aromáticos heterocíclicos, compuestos alifáticos, cetonas, cianidas, alcoholes, nitrilos, 30 ésteres, éter y mezclas de uno o más de estos.
18. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que el disolvente es etanol.
19. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que la concentración se realiza a una 35 temperatura que oscila entre 40 y 80°C.
20. El proceso según se reivindica en la reivindicación 10, en el que el aminoácido es 4-hidroxiisoleucina.
21. Una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson en un sujeto que necesita de dicho tratamiento.
- 40 22. La composición farmacéutica de la reivindicación 21, en la que el sujeto es un animal, incluido un ser humano.
- 45 23. Una composición farmacéutica que comprende trigonelina o sus derivados ácidos y 4-hidroxiisoleucina o sus derivados ácidos, opcionalmente junto con excipientes para su uso en el tratamiento de los efectos secundarios provocados por antagonistas de los receptores de dopamina en un sujeto que necesita de dicho tratamiento, en la que los efectos secundarios son trastornos de movimiento causados por el bloqueo de los 50 receptores de dopamina por antagonistas de receptores de dopamina.
24. La composición farmacéutica de la reivindicación 23, en la que el sujeto es un animal, incluido un ser humano.

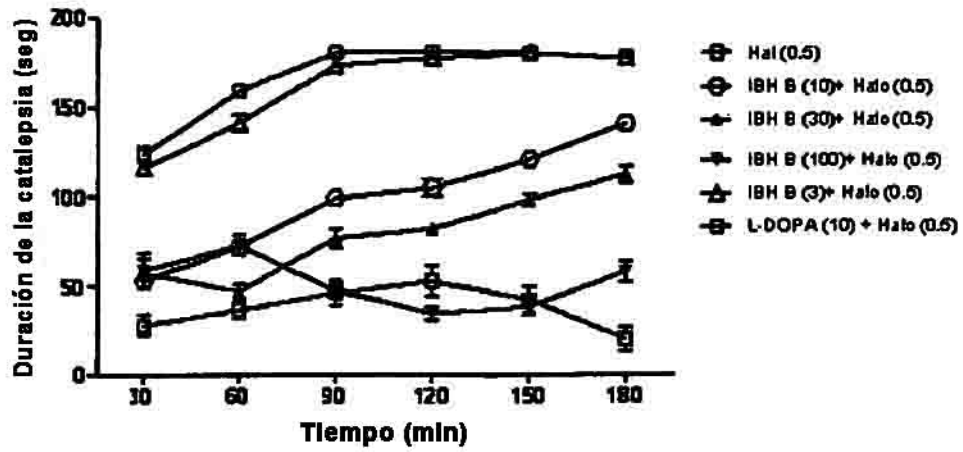


Fig 1

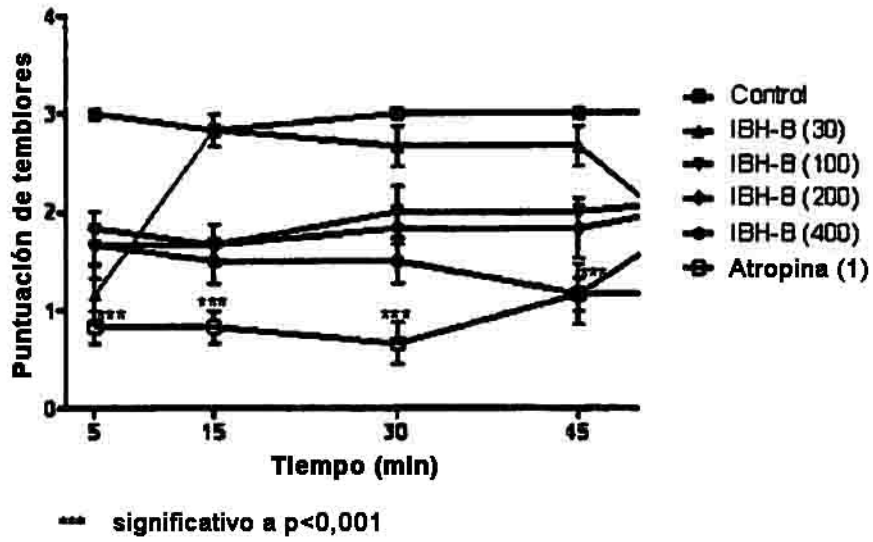
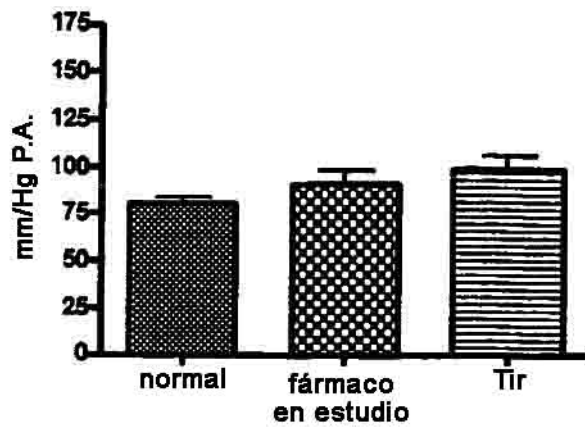
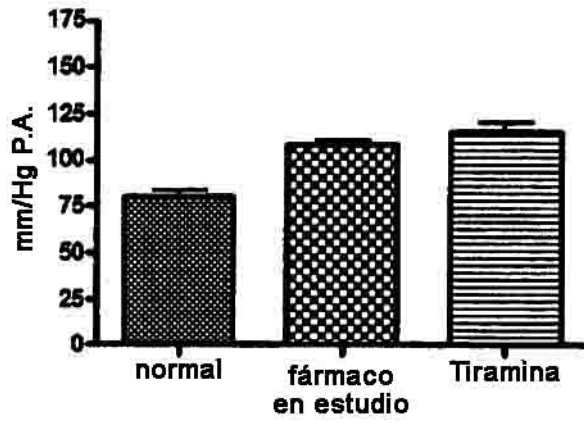


Fig 2



Tratamiento
Fig 3



Tratamiento
Fig 4

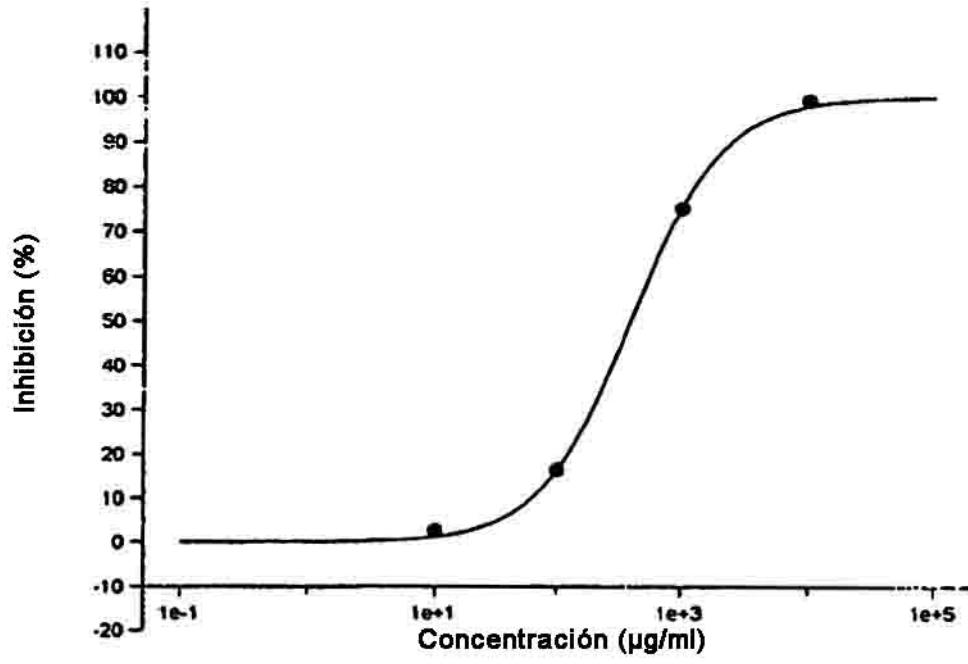


Fig 5