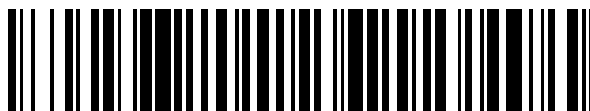


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 586**

51 Int. Cl.:

A61K 35/20 (2006.01)

A61Q 19/00 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2009 E 09776282 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.11.2014 EP 2341916**

54 Título: **Composición de calostro**

30 Prioridad:

12.09.2008 DK 200801286

15.10.2008 US 105507 P

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

23.02.2015

73 Titular/es:

PHARMA GP APS (100.0%)

Fabriksvej 48

4700 Næstved , DK

72 Inventor/es:

PEDERSEN, NINFA RANGEL y

PALLE, STEEN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 529 586 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

Composición de calostro

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a una composición que comprende calostro y al menos un agente seleccionado del grupo de los hidrocoloides, en la que dicho calostro y al menos un agente están bioconjugados. La composición bioconjugada tiene una mejor resistencia a la proteólisis que las composiciones que comprenden calostro bioconjugado. La composición se puede usar en una variedad de entornos, por ejemplo, para la aplicación tópica destinada al tratamiento de afecciones cutáneas. Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de la composición y a un procedimiento de preparación de la composición.

Antecedentes de la invención

10 El calostro es una forma de leche producida por los mamíferos al final del embarazo y unos cuantos días después del parto. El calostro también se conoce como "leche inmune", debido al aumento de los niveles de componentes importantes en la mediación de las respuestas inmunes, en particular, de inmunoglobulinas. Además, el calostro es rico en proteínas, polisacáridos, y nutrientes y vitaminas importantes. Por lo tanto, el calostro se considera una
15 composición con propiedades beneficiosas para el cuidado de la salud. La mayoría de las composiciones que contienen calostro se preparan mediante la adición de calostro en polvo liofilizado purificado. (Wadstein, 2002, Rafkin, 2005). En las células humanas y animales, las proteínas del calostro han demostrado interactuar a través de receptores de la superficie celular e influir en procesos tales como la morfogénesis, la reparación de heridas y los procesos antiinflamatorios. Sin embargo, estos factores pueden ser limitados debido a las malas propiedades mecánicas, la rápida degradación y la eliminación *in vivo* cuando se usa calostro en polvo.

La industria alimentaria está en constante búsqueda de nuevos y mejores ingredientes alimentarios para la posible mejora de las propiedades reológicas de los alimentos procesados.

25 Los consumidores tienen interés en reducir al mínimo el uso de aditivos. Por lo tanto, es de interés poder modificar la funcionalidad de los componentes alimentarios originales, mediante lo que se pueda reducir al mínimo el uso de aditivos obligados a declararse. Las modificaciones de las proteínas lácteas para mejorar sus propiedades gelificantes pueden implicar la aglomeración o alteraciones de la superficie de las proteínas lácteas para mejorar las propiedades de unión hídrica de las proteínas. El objetivo del procedimiento de aglomeración de las proteínas lácteas en la industria es mejorar la funcionalidad de las proteínas lácteas disponibles aumentando la viscosidad y mejorando la textura.

30 En el yogur, la aglomeración de las proteínas de la leche entera aumenta la viscosidad y reduce la sinéresis mejorando la capacidad de retención hídrica del gel. Esto puede conducir a formulaciones convencionales con una textura más rica, de alta calidad, o productos reformulados que mantengan la esperada sensación cremosa en boca.

35 El ácido hialurónico (y sus sales) es un tipo de hidrocoloide, y es miembro no sulfatado de la familia de los glucosaminoglicanos, un grupo diverso de compuestos que intervienen en funciones fundamentales dentro de la célula eucariota. El ácido hialurónico es muy conocido por su gran capacidad de unión hídrica y, por lo tanto, por sus propiedades hidratantes.

40 Las composiciones que contienen una mezcla de calostro, o partes de calostro, y ácido hialurónico son muy conocidas en una serie de aplicaciones, incluyendo la inhibición del crecimiento bacteriano (documento US20070110758), la regulación del estrés oxidativo (documento US 6939847), los suplementos nutricionales (documentos WO2007/12716 y WO2007/112717) y las composiciones cosméticas y/o farmacéuticas (documentos WO2007/009790, WO2007/039124, WO2007/000651).

Sumario de la invención

45 La presente invención se refiere a una composición que comprende calostro y al menos un agente seleccionado del grupo de los hidrocoloides, en la que dicho calostro y al menos un agente están bioconjugados. Así pues, en un primer aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende calostro o parte del mismo y al menos un agente seleccionado entre hidrocoloides, en la que dicho calostro y/o dicho calostro y dicho al menos un agente están bioconjugados.

50 La composición se puede usar como un producto farmacéutico para el tratamiento de una serie de enfermedades. Por lo tanto, en un segundo aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición como se ha descrito anteriormente.

La presente invención también, en un tercer aspecto, se refiere a un procedimiento de producción de la composición como se ha descrito anteriormente. Por consiguiente, un cuarto aspecto se refiere a un procedimiento de preparación de la composición como se describe en el presente documento que comprende las etapas de a)

proporcionar calostro o parte del mismo; proporcionar al menos un agente; c) mezclar dicho calostro o parte del mismo y dicho al menos un agente; d) proporcionar al menos un agente de reticulación; e) mezclar dicho calostro o parte del mismo, dicho al menos un agente y dicho al menos un agente de reticulación; e) obtener un bioconjugado.

- 5 Pertenece al ámbito de la presente invención que la composición como se describe en el presente documento se puede obtener mediante el procedimiento descrito para la preparación de la composición. Por lo tanto, otro aspecto se refiere a una composición que se puede obtener mediante el procedimiento descrito en el presente documento.

La presente invención, en aspectos adicionales, se refiere al uso de la composición para la fabricación de un medicamento, al uso de la composición como un medicamento, al uso de la composición como un agente de aplicación tópica, al uso de la composición para afecciones cutáneas, al uso de la composición como un agente cosmético, como un agente anti-arrugas, y al uso de la composición como un agente hidratante.

En un aspecto final, la presente invención se refiere a un procedimiento de tratamiento de enfermedades cutáneas que comprende la administración de la composición de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz a un animal en necesidad de la misma.

15 **Descripción de las figuras**

Figura 1. A. Imágenes de microscopía de fuerza atómica (AFM) de los bioconjugados de calostro de acuerdo con la presente invención. Bioconjugados de calostro bajos en lactosa. B. Bioconjugados con calostro bajo en lactosa y ácido hialurónico de alto peso molecular. Tamaño de partícula de 30 a 60 nm. Las observaciones se realizaron en escáner AFM con palanca de luz (Modelo N° P-01-0005-0) de Pacific Nanotechnology.

20 Figura 2. Estabilidad de los bioconjugados de calostro bajos en lactosa con y sin ácido hialurónico contra la proteasa ácida. En 20 horas, se destruye el 80 % de los bioconjugados que no contienen ácido hialurónico, y se detectan productos de la proteólisis en el sobrenadante según lo medido con el ensayo de proteína BioRad. Sin embargo, los bioconjugados que contienen ácido hialurónico son resistentes a la proteólisis tras 20 horas de incubación con proteasa ácida. No obstante, a las 48 horas, se ha destruido el 60 % de los bioconjugados de calostro que contienen ácido hialurónico en comparación con la destrucción del 80 % de los bioconjugados que solo contienen calostro. Por lo tanto, el uso de un polímero de hidratos de carbono de cadena larga para preparar los agregados de calostro ayuda en la protección contra la actividad de la proteasa, y se pueden incorporar en formulaciones de principios activos de bioconjugado de liberación lenta.

30 Figura 3. Ensayo de proliferación celular usando el bioconjugado de calostro en una crema base. Se realizaron estudios de proliferación usando una línea de células epiteliales (HT29) con 3 preparaciones (Muestra 1 + Euxyl, Muestra 2 + Euxyl y Muestra 3 + Euxyl) de calostro bioconjugado para medir su capacidad para mejorar la proliferación celular en caso de heridas. Como se puede observar, las 3 muestras son capaces de promover la proliferación celular y la cicatrización, procesos esenciales en caso de lesión celular.

35 Figura 4. A. Antes del uso del bioconjugado de calostro. B. Después de 7 días usando el bioconjugado de calostro. Uso del bioconjugado de calostro en una crema base durante 7 días en un paciente con erupción cutánea de picor en el codo debida a la ingesta de analgésico en exceso. El paciente la ha padecido durante 20 años y ha probado varias cremas cosméticas sin obtener ningún resultado. El paciente ha usado la crema cutánea con la composición de calostro de la presente invención, y el picor y la erupción se han reducido tras 2 días y han desaparecido después de 7 días.

40 Figura 5. A. Antes del uso del bioconjugado de calostro. B. Después de 8 días usando el bioconjugado de calostro. Uso del bioconjugado de calostro de la presente invención en una crema base en herida post-operatoria difícil de curar. Antes de usarse la crema de la presente invención, la herida llevaba varios meses sin curarse. El paciente se aplicó la composición de la presente invención sobre la herida por la mañana y por la noche durante 8 días.

45 Figura 6. A. Antes del uso del bioconjugado de calostro, el paciente había sido tratado por cáncer de piel hacía 5 años con una probable recaída. La flecha indica la zona de sangrado constante durante casi un año mostrando signos de probable recaída. B. 2 semanas después de usarse el bioconjugado de calostro, las heridas se han curado y la herida del paciente ha dejado de sangrar. La flecha indica la zona de cicatrización de las úlceras. El paciente se aplicó el bioconjugado de calostro de la presente invención.

50 La Figura 7. Crema usada en paciente que ha sufrido soriasis grave durante 16 años. A. Antes del uso del bioconjugado de calostro. B. 2 semanas de uso del bioconjugado de calostro. C. 45 días después de usar la crema cutánea con la composición del bioconjugado de calostro de la presente invención.

55 Figura 8. Crema usada en paciente con soriasis desde hace más de 33 años. A y C. 2 meses de uso de una composición de calostro sin hidrocoloides. El picor, la descamación y la inflamación de la piel desaparecieron, pero la placas rojas/decoloración no desaparecieron. B y D. Después de 2 meses más de uso de la

composición de la presente invención que comprende el calostro bioconjugado e hidrocoloides, las placas desaparecieron.

Figura 9. Crema usada en paciente que sufre soriasis en la rodilla desde hace aproximadamente 15 años. A. Antes del uso de la crema. B. Tras 2 semanas de uso de la crema cutánea que comprende el bioconjugado de calostro de la presente invención, desaparece la descamación y la sobreproducción de células cutáneas.

Figura 10. Crema usada en pacientes con soriasis en el codo desde hace 20 años. A. Antes del uso de la crema. B. Tras 2 semanas de uso de la crema cutánea que comprende el bioconjugado de calostro de la presente invención, desaparece la descamación y la sobreproducción de células cutáneas.

Figura 11. Degradación del triptófano en células estimuladas con PHA. Se usaron 10 µg de PHA/ml para la estimulación de células PBMC. Se incubaron las PBMC con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. La preparación de calostro puro suprime la degradación de triptófano inducida por mitógenos de una manera dependiente de la dosis. El Euxyl tiene un efecto más potente y, cuando se añade Euxyl al calostro, el efecto supresor también se vuelve más potente. El efecto de Euxyl es similar al de otros conservantes (Schroeksadel *et al.*, 2007).

Figura 12. Degradación del triptófano sobre células PBMC no estimuladas incubadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Como control, las células se trataron solo con medio. Se puede observar que el calostro tiene un efecto estimulante sobre la degradación del triptófano, mientras que Euxyl tiene un efecto inhibidor. Sorprendentemente, se puede observar que la mayor dilución del calostro parece tener un efecto más potente sobre todo en la degradación del triptófano

Figura 13. Producción de neopterina en células estimuladas con PHA incubadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Se usaron 10 µg de PHA/ml para la estimulación de células PBMC. El calostro puro no suprime las PBMC estimuladas con PHA de una manera dependiente de la dosis. El calostro tiene un efecto estimulante sobre la producción de neopterina. El Euxyl tiene un efecto más potente y, cuando se añade Euxyl al calostro, el efecto supresor también se vuelve más potente, siendo también activo en la supresión de la producción de neopterina.

Figura 14. Producción de neopterina en células no estimuladas. Se incubaron las células con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Como control, las células fueron tratadas solo con medio. El calostro tiene un efecto estimulante sobre la producción de neopterina, mientras que el Euxyl sigue teniendo un efecto inhibidor.

Figura 15. Decadencia del triptófano en células PBMC estimuladas con PHA tratadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Se usaron 10 µg de PHA/ml para la estimulación de células PBMC. La preparación de calostro suprime la degradación del triptófano inducida por mitógenos de un modo dependiente de la dosis. El Euxyl tiene un efecto más potente y, cuando se añade Euxyl al calostro, el efecto supresor también se vuelve más potente.

Figura 16. Decadencia del triptófano en células PBMC no estimuladas tratadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Como control, las células fueron tratadas solo con medio. El calostro tiene un efecto estimulante sobre la degradación del triptófano, mientras que el Euxyl tiene un efecto inhibidor. Sorprendentemente, el aumento de la dilución del calostro parece tener un efecto más potente sobre la degradación del triptófano en las células no estimuladas.

Figura 17. Producción de quinurenina en células PBMC no estimuladas tratadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Como control, las células fueron tratadas solo con medio. En las células PBMC no estimuladas, el calostro con y sin la presencia de Euxyl desempeña un papel decisivo en la reducción de la producción de quinurenina de una manera dependiente de la dosis. El Euxyl puro no tiene ningún efecto.

Figura 18. Producción de quinurenina en células PBMC estimuladas con PHA tratadas con calostro con/sin Euxyl y con Euxyl puro. Se usaron 10 µg de PHA/ml para la estimulación de células PBMC. Como control, las células fueron tratadas solo con medio. Hay una reducción de la producción de quinurenina de una manera dependiente de la dosis al añadir calostro con/sin Euxyl a las células PBMC estimuladas.

Figura 19: Concentraciones de triptófano, quinurenina, proporción de quinurenina con respecto al triptófano (quin/trp) y neopterina en el sobrenadante de células PBMC no estimuladas y en células estimuladas con 10 µg/ml de fitohemaglutinina (PHA) durante 48 h. Los resultados mostrados son los valores medios ± ETM de tres experimentos independientes realizados por duplicado (**p < 0,005, en comparación con las células no estimuladas).

Figura 20: A. Proporción de quinurenina con respecto al triptófano; y B. formación de neopterina expresada como % del control no estimulado (C) en PBMC tratadas o no con concentraciones crecientes de calostro bovino con cantidades bajas y más altas de lactosa y solo lactoferrina durante 48 h. Los resultados mostrados son los valores medios ± ETM de tres experimentos independientes realizados por duplicado (*p < 0,05).

Figura 21: A. Proporción de quinurenina con respecto al triptófano; y B. formación de neopterina expresada como % del control no estimulado (C) en PBMC tratadas o no con concentraciones crecientes de calostro bovino con o sin Euxyl y solo Euxyl durante 48 h. Los resultados mostrados son los valores medios $\pm$ ETM de tres experimentos independientes realizados por duplicado (*p < 0,05).

Figura 22: A. Proporción de quinurenina con respecto al triptófano; y B. formación de neopterina expresada como % del control de fitohemaglutinina (PHA, 10 μ g/ml) (C) en PBMC tratadas conjuntamente o no con concentraciones crecientes de calostro bovino con cantidades bajas y más altas de lactosa y solo lactoferrina durante 48 h. Los resultados mostrados son los valores medios $\pm$ ETM de tres experimentos independientes realizados por duplicado (*p < 0,05).

Figura 23: A. Proporción de quinurenina con respecto al triptófano; y B. formación de neopterina expresada como % del control de fitohemaglutinina (PHA, 10 μ g/ml) (C) en PBMC tratadas conjuntamente o no con concentraciones crecientes de calostro bovino con o sin Euxyl y solo Euxyl durante 48 h. Los resultados mostrados son los valores medios $\pm$ ETM de tres experimentos independientes realizados por duplicado (*p < 0,05).

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende calostro o parte del mismo y al menos un agente seleccionado entre hidrocoloides, en la que dicho calostro y/o dicho calostro y dicho al menos un agente están bioconjugados.

La presente invención hace uso de calostro e hidrocoloides, por ejemplo, ácido hialurónico, en combinación con agentes de reticulación produciendo una nueva composición que comprende partículas bioconjugadas. El tamaño de estos bioconjugados facilita la penetración de los componentes activos en la piel y dirige procesos celulares dentro de la piel. Además, la composición bioconjugada tiene mayores efectos inmunoestimulantes y antiinflamatorios, en comparación con composiciones similares que no comprenden bioconjugados. Además, la composición que comprende partículas bioconjugadas tiene propiedades superiores con respecto a la degradación y la eliminación *in vivo*, en comparación con composiciones similares que no comprenden bioconjugados.

La presencia de los hidrocoloides junto con los diversos componentes del calostro durante la bioconjugación aumenta la sinergia entre los componentes del calostro en comparación con la bioconjugación de los componentes individuales en ausencia de hidrocoloides.

La bioconjugación de dicho calostro o parte del mismo y al menos un agente seleccionado entre hidrocoloides aporta a la composición una mejor resistencia a, por ejemplo, la proteólisis, mejorando así la aplicabilidad de la composición.

La incorporación de ácido hialurónico o goma de xantano o alginato de sodio o β -glucano junto con las proteínas aglomeradas (bioconjugadas) probablemente puede aumentar la aplicación biomédica de la crema para la piel.

Calostro

El calostro es una forma de leche producida por los mamíferos al final del embarazo y unos cuantos días después del parto. El calostro es alto en hidratos de carbono, en particular, en lactosa, proteína y anticuerpos (inmunoglobulinas). El calostro contiene las cinco inmunoglobulinas que se encuentran en todos los mamíferos (A, D, G, E y M) y la cantidad total de inmunoglobulinas puede ser de hasta el 10 % del contenido total de proteínas en el calostro. Otras proteínas del calostro incluyen lactoferrina, lactoalbúmina, lactoglobina, lactoperoxidasa y factores de crecimiento, en particular, IGF y péptidos tales como PRP (polipéptidos ricos en prolina). Además, el calostro contiene grasas, vitaminas y nutrientes.

En una realización de la presente invención, el calostro o parte del mismo, procede de la especie bovina, equina, porcina, humana, ovina, caprina o cérvida. Sin embargo, en otra realización, el calostro o parte del mismo es de origen bovino, porcino o humano. En una realización preferida, el calostro es de origen bovino.

De acuerdo con la presente invención, la composición comprende calostro entero o parte del mismo. Los principales componentes del calostro son grasas, proteínas, lactosa, minerales, inmunoglobulinas (IgA, IgD, IgG, IgE e IgM), lactoferrina, agua y vitaminas liposolubles, respectivamente. A continuación, se da un ejemplo de la distribución de los componentes principales del calostro bovino:

Ejemplo de la distribución de los componentes principales del calostro bovino

Grasas	6,7 % p/p
Proteína	14,9 % p/p
Lactosa	2,5 % p/p
Cenizas (minerales)	0,05 % p/p
Inmunoglobulinas	47,5 mg/ml
Lactoferrina	0,8 mg/ml
Vitaminas (liposolubles)	8,0 µg/ml
Vitaminas (hidrosolubles)	6,8 µg/ml

En una realización de la presente invención, las composiciones contienen calostro entero. En otra realización, las composiciones de la presente invención comprenden, por ejemplo, partes de calostro entero. En una realización, se retiran las grasas y/o la lactosa del calostro. En otra realización, la composición comprende inmunoglobulinas y lactoferrina de calostro. Por ejemplo, la composición comprende al menos IgA, IgM y lactoferrina de calostro. En otra realización más, la composición de la presente invención comprende al menos IgA, IgM, IgG y lactoferrina de calostro. En otra realización más, la composición de la presente invención comprende al menos IgA, IgM, IgG, lactoferrina y β -lactoglobulina de calostro. En una realización adicional, la composición de la presente invención comprende al menos IgA, IgM, IgG, lactoferrina, β -lactoglobulina y α -lactoalbúmina de calostro.

En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende al menos IgA, IgM, IgG, lactoferrina, β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina e IGF-1 de calostro.

En una realización, la composición de la presente invención comprende los siguientes componentes en las siguientes cantidades de proteínas bioconjugadas totales de calostro: lactoferrina a una concentración entre 1-100 µg/ml, β -lactoglobulina a una concentración entre 1.000-4.000 ng/ml, α -lactoalbúmina a una concentración entre 1.000-4.000 ng/ml, IgG a una concentración entre 1-10 mg/ml, IgA a una concentración entre 0,05 a 3,00 mg/ml, IgM a una concentración entre 0,05-4,00 mg/ml e IGF-1 a una concentración entre 1-15 ng/ml.

En otra realización, la composición de la presente invención comprende los siguientes componentes en las siguientes cantidades de proteínas bioconjugadas totales de calostro: lactoferrina a una concentración entre 10-50 µg/ml, β -lactoglobulina a una concentración entre 2.000-3.000 ng/ml, α -lactoalbúmina a una concentración entre 2.000-3.000 ng/ml, IgG a una concentración entre 3-8 mg/ml, IgA a una concentración entre 0,08-2,00 mg/ml, IgM a una concentración entre 1-3 mg/ml e IGF-1 a una concentración entre 2-10 ng/ml.

En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende los siguientes componentes en las siguientes cantidades de proteínas bioconjugadas totales de calostro: lactoferrina a una concentración de al menos 35 µg/ml, β -lactoglobulina a una concentración de al menos 2.300 ng/ml, α -lactoalbúmina a una concentración de al menos 2.200 ng/ml, IgG a una concentración de al menos 4 mg/ml, IgA a una concentración de al menos 0,15 mg/ml, IgM a una concentración de al menos 1 mg/ml e IGF-1 a una concentración de al menos 5 ng/ml.

El calostro se puede extraer del animal que va a dar a luz desde pocos días antes a algunos días después del parto. En una realización de la presente invención, el calostro usado para la preparación de la composición es calostro o parte del mismo recogido hasta 72 horas después del parto. Sin embargo, en una realización preferida de la presente invención, el calostro o parte del mismo se recoge hasta 48 horas después del parto.

También es beneficioso aglomerar todas las proteínas del calostro y no sólo unas cuantas proteínas, pues la combinación de las proteínas es necesaria para los procedimientos de curación de la piel como se ha visto con los resultados de la presente invención. Las proteínas de calostro aglomeradas preparadas mediante ordeño tras 6 horas que contienen un máximo de anticuerpos no pudieron ejercer el mismo efecto curativo que el ejercido en el caso de la proteína aglomerada preparada mediante la recogida de los calostros pasadas 48 horas.

De acuerdo con la presente invención, la composición comprende del 1 % al 95 % (p/p) de calostro de la composición total, tal como del 5 % al 95 %, por ejemplo, del 10 % al 95 %, tal como del 15 % al 95 %, por ejemplo, del 20 % al 90 %, tal como del 25 % al 95 %, del 30 % al 95 %, del 35 % al 95 %, por ejemplo, del 40 % al 95 %, tal como del 45 % al 95 %, del 50 % al 95 %, del 55 % al 95 %, del 60 % al 95 %, por ejemplo, del 65 % al 95 %, tal como del 70 % al 95 %, del 75 % al 95 %, del 80 al 95 %, del 85 % al 95 %, por ejemplo, del 90 % al 95 %.

En otra realización, la composición de la presente invención comprende del 1 % al 75 % (p/p) de calostro de la composición total, tal como del 5 % al 75 %, por ejemplo, del 10 % al 75 %, tal como del 15 % al 75 %, por ejemplo, del 20 % al 75 %, tal como del 25 % al 75 %, del 30 % al 75 %, del 35 % al 75 %, por ejemplo, del 40 % al 75 %, tal como del 45 % al 75 %, del 50 % al 75 %, del 55 % al 75 %, del 60 % al 75 %, por ejemplo, el 65 % al 75 %, tal como del 70 % al 75 %.

En otra realización más, la composición de la presente invención comprende del 1 % al 50 % (p/p) del calostro de la composición total, tal como del 5 % al 50 %, por ejemplo, del 10 % al 50 %, tal como del 15 % al 50 %, por ejemplo, del 20 % al 50 %, tal como del 25 % al 50 %, del 30 % al 50 %, del 35 % al 50 %, por ejemplo, del 40 % al 50 %, tal como del 45 % al 50 %.

- 5 En una realización adicional, la composición de la presente invención comprende del 1 % al 35 % (p/p) de calostro de la composición total, tal como del 5 % al 35 %, por ejemplo, del 10 % al 35 %, tal como del 15 % al 35 %, por ejemplo, del 20 % al 35 %, tal como del 25 % al 35 %, del 30 % al 35 %.

En una realización adicional más, la composición de la presente invención comprende calostro que era originalmente recién extraído líquido, recién congelado, congelado o liofilizado.

- 10 En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende calostro en el intervalo del 1 % al 30 % (p/p) de la composición total, tal como del 5 % al 30 %, del 10 % al 30 %, por ejemplo, del 15 % al 30 %, del 20 % al 30 %, tal como del 25 % al 30 %. En una realización preferida adicional, la composición de la presente invención comprende calostro en el intervalo del 5 % al 25 % (p/p) de la composición total, tal como del 10 % al 25 %, por ejemplo, del 15 % al 25 %, tal como del 20 % al 25 %. En una realización preferida más, la composición de la presente invención comprende calostro en el intervalo del 1 % al 20 % (p/p) de la composición total, tal como del 5 % al 20 %, por ejemplo, del 10 % al 20 %, del 15 % al 20 % o del 5 % al 15 %, tal como del 10 al 15 %.

En una realización especialmente preferida, el calostro de la presente invención es calostro entero sin grasa y/o lactosa de origen bovino, recogido hasta 48 horas después del parto, que fue originalmente liofilizado y estando la cantidad de calostro en el intervalo del 5 % al 30 % (p/p) de la composición total.

20 Agentes

Además de calostro, la presente invención comprende al menos un agente seleccionado entre hidrocoloides.

En una realización de la presente invención, el hidrocoloide se selecciona del grupo que consiste en agar/agar, almidón y sus derivados, almidón de patata, carragenano, goma guar, pectina y sus derivados, goma de xantano, alginato, arabinosilano, celulosa y sus derivados, carboximetilcelulosa, quitina, xilano, curdlán, β -glucano, goma arábica, goma de algarroba, ácido hialurónico, gelatina y proteína de soja. Está dentro del alcance de la presente invención que el hidrocoloide se pueda seleccionar individualmente del grupo en realizaciones separadas.

- 30 El agar o agar/agar es una sustancia gelatinosa derivada de algas marinas. El almidón es un polímero de glucosa ramificado con enlaces β -1,4/1,6. El carragenano es un polisacárido lineal sulfatado extraído de algas rojas. La goma guar, también denominada guaraná, es un galactomanano extraído de granos de guar. La pectina es un heteropolisacárido derivado de la pared celular de las plantas. La goma de xantano es un polisacárido de cadena larga compuesto de los azúcares glucosa, manosa y ácido glucurónico. El alginato de sodio es un hidrocoloide compuesto de la sal de sodio de dos uronatos de azúcar, ácido manurónico y ácido gulurónico. El arabinosilano es un heteropolisacárido que consiste en restos de arabinofuranosa unidos a cadenas principales poliméricas de xilopiranosas. La celulosa es un polímero de glucosa lineal con enlaces β -1,4. La carboximetilcelulosa es un derivado de celulosa con grupos carboximetilo ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$) unidos a algunos de los grupos hidroxilo de los monómeros de glucopiranosas que conforman la cadena principal de celulosa. Los xilanos son heteropolisacáridos altamente complejos que se encuentran en las paredes celulares de las plantas y en algunas algas. El β -glucano es un polímero de glucosa con enlaces β -1,3/1,6. El curdlán o β -1,3-glucano es un polímero de glucosa con enlaces β -1,3. La goma arábica es una mezcla de sacáridos y glucoproteínas extraídas del árbol de acacia. La goma de algarroba es una goma de galactomanano vegetal extraída de las semillas del árbol de algarrobo. El ácido hialurónico es un miembro no sulfatado de la familia de los glucosaminoglicanos. La gelatina es una proteína producida por hidrólisis parcial del colágeno extraído de los tejidos conjuntivos de muchos animales. La proteína de soja es la proteína de almacenamiento mantenida en partículas diferenciadas denominadas cuerpos proteicos de la soja.

- 45 El hialuronano (también denominado ácido hialurónico o hialuronato) es un glucosaminoglicano no sulfatado. El hialuronano es un polímero de disacáridos, propiamente compuestos de ácido D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina, unidos entre sí a través de enlaces glucosídicos β -1,4 y β -1,3 alternos. El hialuronano puede tener una longitud de 25.000 repeticiones de disacárido. Los polímeros de hialuronano pueden variar en tamaño de 5.000 a 20.000.000 Da *in vivo*. El ácido hialurónico se encuentra de manera natural en muchos tejidos del cuerpo, tales como la piel, el cartílago y el humor vítreo. Por lo tanto, es compatible con las aplicaciones biomédicas que incluyan estos tejidos. En el tejido cutáneo, el ácido hialurónico es la sustancia gelatinosa que llena el espacio entre el colágeno y las fibras de elastina de la piel, y proporciona un mecanismo de transporte de los nutrientes esenciales desde el torrente sanguíneo a las células vivas de la piel. Su capacidad de retención hídrica hidrata la piel. (Block y Bettelheim, 1970, Goa y Benfield, 1994) y actúa como un agente amortiguador y lubricante contra daños mecánicos y químicos. Debido a sus propiedades de retención hídrica y a su capacidad para mantener el crecimiento de los fibroblastos y los queratinocitos (Liu, 2007) en la preparación de la piel artificial para la cicatrización de heridas, la importancia del ácido hialurónico ha aumentado todavía más su uso en la crema de

calostro aglomerado anteriormente mencionada.

El β -glucano es un polisacárido de origen natural que se ha estudiado por sus propiedades antitumorales e inmunoestimulantes. Ejerce potentes efectos sobre el sistema inmune – estimulando la actividad antitumoral y antimicrobiana, por ejemplo, mediante la unión a receptores en los macrófagos y otros glóbulos blancos, y la activación de los mismos (Gu *et al.*, 2005).

La goma de xantano es un polisacárido. La estructura principal de la cadena del polisacárido consiste en dos unidades de β -D-glucosa unidas a través de las posiciones 1 y 4. La cadena lateral consiste en dos manosas y un ácido glucurónico, por lo que la cadena consiste en módulos de repetición de cinco unidades de azúcar. La cadena lateral está unida a glucosas alternas de la estructura principal en la posición 3. Aproximadamente la mitad de las unidades de manosa terminales tiene un grupo ácido pirúvico ligado como un cetel a sus posiciones 4 y 6. La otra unidad de manosa tiene un grupo acetilo en la posición 6. Dos de estas cadenas pueden estar alineadas para formar una doble hélice, dando una configuración de barra bastante rígida que es responsable de su alta eficacia como agente de viscosidad del agua. El peso molecular del xantano varía de aproximadamente un millón a 50 millones, dependiendo de cómo se prepara.

El compuesto químico alginato de sodio es la sal de sodio del ácido algínico. Su fórmula química empírica es $\text{NaC}_6\text{H}_7\text{O}_6$. Su forma como goma, cuando se extrae de las paredes celulares de las algas marrones, es usada por la industria alimentaria para aumentar la viscosidad y como emulsionante. También se usa en los comprimidos para la indigestión y en la preparación de impresiones dentales. El alginato de sodio no tiene un sabor discernible. El ácido algínico (algina, alginato) es una goma viscosa que es abundante en las paredes celulares de las algas marrones. Químicamente, es un copolímero lineal con bloques homopoliméricos de β -D-manuronato (M) (1-4)-unidos y sus restos de epímero C-5 α -L-guluronato (G), respectivamente, covalentemente unidos entre sí en diferentes secuencias o bloques. Los monómeros pueden aparecer en bloques homopoliméricos de restos de G consecutivos (bloques de G), restos de M consecutivos (bloques de M), restos de M y G alternos (bloques de MG) o bloques organizados aleatoriamente.

La goma de xantano y el alginato de sodio se usan en sistemas de administración de fármacos en los que se sabe que modifican positivamente las propiedades físico-químicas, así como las propiedades de liberación de fármaco de las composiciones farmacológicas (Pongjanyakul y Puttipipatkachorn, 2006).

En otra realización, el hidrocoloide se selecciona del grupo que consiste en agar/agar, almidón y sus derivados, almidón de patata, carragenano, goma de xantano, alginato, celulosa y sus derivados, carboximetilcelulosa, quitina, xilano, curdlán, β -glucano, goma árabe, ácido hialurónico, gelatina y proteína de soja. En otra realización más, el hidrocoloide se selecciona del grupo que consiste en goma guar, pectina y sus derivados, goma de xantano, alginato, arabinoxilano, celulosa y sus derivados, carboximetilcelulosa, quitina, xilano, β -glucano, goma arábica, ácido hialurónico y la gelatina.

En una realización, dicho al menos un agente de la composición se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano, alginato de sodio, β -glucano y ácido hialurónico o derivados de los mismos. En otra realización, dicho al menos un agente se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano, alginato de sodio y β -glucano o derivados de los mismos. Dicho al menos un agente se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano, β -glucano y ácido hialurónico o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano, alginato de sodio y ácido hialurónico o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en alginato de sodio, β -glucano y ácido hialurónico o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano y β -glucano o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano y alginato de sodio o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en goma de xantano y ácido hialurónico o derivados de los mismos, o se selecciona del grupo que consiste en alginato de sodio y β -glucano o derivados de los mismos, se selecciona del grupo que consiste en alginato de sodio y ácido hialurónico o derivados de los mismos, se selecciona del grupo que consiste en β -glucano y ácido hialurónico o derivados de los mismos. En una realización, dicho al menos un agente de la composición es goma de xantano o derivados del mismo. Como alternativa, dicho al menos un agente es alginato de sodio o derivados del mismo. Sin embargo, en una realización, el al menos un agente es β -glucano o derivados del mismo. En una realización preferida de la presente invención, dicho al menos un agente es ácido hialurónico o derivados del mismo.

En una realización, la composición de la presente invención comprende bioconjugados de calostro y uno o más de dichos agentes, en la que la cantidad de dicho agente es del 0,01 % al 20 % (p/p) de la cantidad total de calostro. En otra realización de la presente invención, la composición comprende bioconjugados de calostro y uno o más de dichos agentes, en la que la cantidad de dicho agente es del 0,01 % al 10 % (p/p) de la cantidad total de calostro. En otra realización, la composición de la presente invención comprende bioconjugados de calostro y uno o más de dichos agentes, en la que la cantidad de dicho agente está en el intervalo del 1 % al 10 % (p/p) de la cantidad total de calostro. En otra realización más, la composición de la presente invención comprende bioconjugados de calostro y uno o más de dichos agentes, en la que la cantidad de dicho agente está en el intervalo del 2 % al 6 % (p/p) de la cantidad total de calostro. En una realización adicional, la composición de la presente invención comprende bioconjugados de calostro y uno o más de dichos agentes, en la que la cantidad de dicho agente está

en el intervalo del 4 % al 5 % (p/p) de la cantidad total de calostro.

En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende bioconjugados de calostro y ácido hialurónico o derivados del mismo, en la que la cantidad de ácido hialurónico o derivados del mismo es al menos el 4,5 % (p/p) de la cantidad total de calostro, y en la que el calostro de la presente invención es calostro entero sin grasa y/o lactosa de origen bovino, recogido hasta 48 horas después del parto, que originalmente fue liofilizado, y en la que la cantidad de calostro está en el intervalo del 5 % al 30 % (p/p) de la composición total.

Bioconjugación

La bioconjugación es el procedimiento de acoplamiento de una o más biomoléculas juntas en un enlace covalente. Los tipos comunes de química de bioconjugación son el acoplamiento con amina de los restos de aminoácido lisina (normalmente a través de succinimidilésteres reactivos con amina), el acoplamiento con sulfhidrilo de restos de cisteína (a través de una maleimida reactiva con sulfhidrilo) y las reacciones de radicales libres iniciadas fotoquímicamente, que tienen una reactividad más amplia. El producto de una reacción de bioconjugación es un bioconjugado.

En la presente invención, la bioconjugación es el acoplamiento de un hidrocoloide con calostro y/o el acoplamiento de componentes de calostro con componentes de calostro. En el presente documento, el término "bioconjugación" se usa indistintamente con el término aglomeración, conglomeración o agregación.

La composición bioconjugada de la presente invención tiene varias ventajas en comparación con una composición similar que no está bioconjugada. El tamaño de los bioconjugados facilita la penetración de los componentes activos en la piel y dirige procesos celulares dentro de la piel. Además, la composición bioconjugada tiene mayores efectos inmunoestimulantes y antiinflamatorios, en comparación con las composiciones similares que no comprenden bioconjugados (Ejemplo 14, Fig. 11-18). Además, la composición que comprende partículas bioconjugadas tiene propiedades superiores con respecto a la degradación (Ejemplo 9, Fig. 2) y la eliminación *in vivo*, en comparación con composiciones similares que no comprenden bioconjugados.

La cantidad de calostro bioconjugado en la presente invención, es decir, la cantidad de calostro de los bioconjugados, en comparación con la cantidad total de calostro, se calcula como se describe en el Ejemplo 7 que figura más adelante. En una realización de la presente invención, la cantidad de calostro de los bioconjugados es del 30 % al 100 % (p/p) de la cantidad total de calostro, por ejemplo, del 40 % al 100 % (p/p), tal como del 50 % al 100 % (p/p), por ejemplo, del 60 % al 100 % (p/p), del 70 % al 100 % (p/p), tal como del 80 % al 100 % (p/p), por ejemplo, del 90 % al 100 % (p/p). En una realización preferida, la cantidad de calostro bioconjugado es del 90-100 % (p/p) de la cantidad total de calostro.

Reticulación

Las reticulaciones son enlaces químicos que unen una cadena de polímero a otra, y pueden ser de naturaleza covalente o iónica. Las cadenas poliméricas se pueden referir a polímeros sintéticos o polímeros naturales (tales como proteínas, polisacáridos, etc.). El agente de reticulación (o reticulante) se refiere al compuesto que media la unión química de dos o más cadenas poliméricas. Como alternativa, los enlaces se forman dentro de una cadena polimérica. Se apreciará que, por tanto, la reticulación se produce entre dos o más cadenas poliméricas y/o dentro de una cadena polimérica.

De acuerdo con la presente invención, la reticulación de la composición que comprende el calostro y al menos un agente produce la bioconjugación de estos componentes.

En una realización de la presente invención, el agente de reticulación se selecciona entre EGS (bis[succinimidilsuccinato] de etilenglicol), sulfo EGS (bis[sulfosuccinimidilsuccinato] de etilenglicol), C6-SANH (hidrazona de acetona de C6-succinimidil-4-hidrazinonicotinato), SANH (hidrazona de succinimidil-4-hidrazinonicotinato-acetona), C6-SFB (C6-succinimidil-4-formilbenzoato), BSOCOES (Bis[2-(succinimidiloxycarbonilo)etil]sulfona), DSP (ditiobis[succinimidil-propionato]), DTSSP (3,3'-ditiobis[sulfosuccinimidil-propionato]), DTBPD (dimetil-3,3'-ditiobispropionimidato•2 HCl), DSS (disuccinimidilsuberato), BS (bis[sulfosuccinimidil]suberato), DMS (dimetilsuberimidato•2 HCl), DMP (dimetilpimelimidato•2 HCl), DMA (dimetiladipimidato•2 HCl), SHTH (clorhidrato de succinimidil-4-hidrazidotereftalato), DSG (disuccinimidilglutarato), MSA (metil-N-succinimidiladipato), DST (disuccinimidiltartrato), SFB (succinimidil-4-formilbenzoato), DFDNB (1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno), DSP (ditiobis[succinimidilpropionato]), DTSSP (3,3'-ditiobis[sulfosuccinimidilpropionato]), EDC/NHS, glutaraldehído, dihidroxiacetona, fenilazida, tirosinasa y/o transglutaminasa.

En una realización preferida de la presente invención, el agente de reticulación se selecciona entre EDC/NHS o derivados del mismo, glutaraldehído o derivados del mismo, transglutaminasa o derivados de la misma, tirosinasa o derivados de la misma y/o dihidroxiacetona o derivados de la misma.

En realizaciones preferidas, el agente de reticulación es dihidroxiacetona o derivados de la misma, el agente de

reticulación es EDC/NHS o derivados del mismo, el agente de reticulación es glutaraldehído o derivados del mismo, el agente de reticulación es transglutaminasa o derivados de la misma, el agente de reticulación es glutaraldehído o derivados del mismo, el agente de reticulación es transglutaminasa o derivados de la misma, el agente de reticulación es tirosinasa o derivados de la misma.

5 Partículas de bioconjugados

La presente invención se refiere a composiciones bioconjugadas, comprendiendo dichas composiciones bioconjugadas partículas. La composición de la presente invención comprende bioconjugados de componentes de calostro e hidrocoloides y/o bioconjugados de componentes de calostro y componentes de calostro, en las que dichos bioconjugados están en forma de partículas. En una realización preferida de la presente invención, estas

partículas tienen forma globular y/o esférica, y son partículas individuales y/o grupos de partículas. Las partículas de los bioconjugados pueden ser de tamaños iguales o diferentes. En todas las realizaciones de la presente invención, estas partículas tienen diámetros en el intervalo de 0,1 nm a 1,0 μ m. En algunas realizaciones de la presente invención, las partículas tienen diámetros en el intervalo de 1 nm a 500 nm, por ejemplo, de 5 nm a 400 nm, tales como de 10 nm a 350 nm, por ejemplo, de 20 nm a 300 nm, de 30 nm a 250 nm, tal como de 40 nm a 200 nm, de 50 nm a 170 nm, por ejemplo, de 60 nm a 150 nm o de 75 nm a 100 nm.

En una realización preferida de la presente invención, las partículas tienen diámetros en el intervalo de 10 nm a 300 nm. En otra realización preferida de la presente invención, las partículas tienen diámetros en el intervalo de 50 nm a 150 nm (Fig. 1A). En una realización preferida adicional de la presente invención, las partículas tienen diámetros en el intervalo de 30 nm a 60 nm (Fig. 1B).

20 Composición

En una realización, la composición de la presente invención comprende:

- calostro entero sin grasa y/o lactosa de origen bovino, recogido hasta 48 horas después del parto, que originalmente fue liofilizado, y estando la cantidad de calostro en el intervalo del 1 % al 95 % (p/p) de la composición total; y
- al menos un agente hidrocoloide, siendo la cantidad de dicho agente del 0,01 % al 20 % (p/p) de la cantidad total de calostro y en la que el agente hidrocoloide es ácido hialurónico; y
- en la que la composición está bioconjugada y en la que la cantidad de calostro de los bioconjugados está en el intervalo del 30 % al 100 % (p/p) de la cantidad total de calostro, y
- en la que los diámetros de las partículas bioconjugadas (bioconjugados) está en el intervalo de 10 nm a 300 nm.

En una realización preferida, la composición de la presente invención comprende

- calostro entero sin grasa y/o lactosa de origen bovino, recogido hasta 48 horas después del parto, que originalmente fue liofilizado, y estando la cantidad de calostro en el intervalo del 5 % al 30 % (p/p) de la composición total; y
- al menos un agente hidrocoloide, siendo la cantidad de dicho agente del 0,01 % al 10 % (p/p) de la cantidad total de calostro y en la que el agente hidrocoloide es ácido hialurónico; y
- en la que la composición está bioconjugada y en la que la cantidad de calostro de los bioconjugados está en el intervalo del 90 % al 100 % (p/p) de la cantidad total de calostro, y
- en la que los diámetros de las partículas bioconjugadas (bioconjugados) está en el intervalo de 30 nm a 60 nm y/o de 50 nm a 150 nm.

Modulación inmune y modulación del crecimiento

La expresión "modulación inmune", como se usa en el presente documento, se refiere al procedimiento en el que una respuesta inmune bien es suprimida, parcial o completamente, o activada o inducida o aumentada. En el primer caso, la modulación inmune produce inmunosupresión, y en el último caso la modulación inmune produce

inmunoestimulación. La composición de la presente invención tiene propiedades inmunomoduladoras. En una realización, la composición de la presente invención tiene una propiedad o un efecto inmunoestimulante. En otra realización, la composición de la presente invención tiene una propiedad o un efecto inmunosupresor. Asimismo, la expresión "modulación del crecimiento", como se usa en el presente documento, se refiere al procedimiento en el que la proliferación celular bien es suprimida, parcial o completamente, o la proliferación celular es inducida o aumentada o potenciada. En el primer caso, la modulación del crecimiento produce la supresión del crecimiento, y en el último caso, la modulación del crecimiento produce la estimulación del crecimiento. La composición de la presente invención tiene propiedades moduladoras del crecimiento. En una realización, la composición de la presente invención tiene una propiedad o un efecto estimulante del crecimiento. En otra realización, la composición de la presente invención tiene una propiedad o un efecto supresor del crecimiento.

Formas de administración

Las principales vías de administración de fármacos, en el procedimiento de tratamiento, son la intravenosa, oral y tópica, como se describirá a continuación. También se contemplan otros procedimientos de administración de fármacos, tales como la inyección subcutánea o por inhalación, que son eficaces para administrar el fármaco en un sitio diana o introducir el fármaco en el torrente sanguíneo.

La membrana mucosa en la que se administra la preparación farmacéutica de la invención puede ser cualquier membrana mucosa del mamífero en la que se vaya a administrar la sustancia biológicamente activa, por ejemplo, en la nariz, vagina, ojo, boca, tracto genital, pulmones, tracto gastrointestinal o recto, preferentemente la mucosa de la nariz, boca o la vagina.

Las composiciones de la invención se pueden administrar parenteralmente, es decir, por vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intranasal, intrarrectal, intravaginal o intraperitoneal. En general, se prefieren las formas de administración parenteral subcutánea e intramuscular. Las formas de dosificación apropiadas para dicha administración se pueden preparar mediante técnicas convencionales. Las composiciones también se pueden administrar por inhalación, es decir, por administración intranasal e inhalación oral. Las formas de dosificación apropiadas para dicha administración, tales como una formulación en aerosol o un inhalador de dosis medidas, se pueden preparar mediante técnicas convencionales.

Las composiciones de acuerdo con la invención se pueden administrar con al menos otro compuesto. Los compuestos se pueden administrar simultáneamente, bien como formulaciones separadas o combinadas en una forma de dosificación unitaria, o administrarse secuencialmente.

Pautas de dosificación

Las necesidades de dosificación variarán con la composición farmacológica empleada en particular, la vía de administración y el sujeto que se está tratando en particular. Lo ideal es que un paciente que se vaya a tratar mediante el presente procedimiento reciba una cantidad farmacéuticamente eficaz de la composición a la dosis máxima tolerada, por lo general, no superior a la necesaria antes desarrollarse la resistencia al fármaco.

Para todos los procedimientos de uso desvelados en el presente documento para las composiciones, la pauta de dosificación oral diaria será preferentemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total. La pauta de dosificación parenteral diaria será de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 80 mg/kg de peso corporal total. La pauta de dosificación tópica diaria será preferentemente de 0,1 mg a 150 mg, administrados de una a cuatro, preferentemente dos o tres veces al día. La pauta de dosificación por inhalación diaria será preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg al día. Además, el experto en la materia reconocerá que la cantidad óptima y el espaciamiento de las dosis individuales de una composición o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma estarán determinados por la naturaleza y la extensión de la afección que se esté tratando, la forma, la vía y el sitio de administración, y el paciente que se esté tratando en particular, y que dichos valores óptimos se pueden determinar mediante técnicas convencionales. El experto en la materia también apreciará que el curso óptimo de tratamiento, es decir, el número de dosis de una composición o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma administradas al día durante un número definido de días, puede ser determinado por los expertos en la materia usando ensayos convencionales de determinación de del curso de los tratamientos.

La expresión "forma de dosificación unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de una composición, sola o en combinación con otros agentes, calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente, vehículo o portador farmacéuticamente aceptable. Las especificaciones para las formas de dosificación unitaria de la presente invención dependen de la composición o las composiciones empleadas en particular y del efecto que se desee conseguir, así como de la farmacodinámica asociada con cada composición en el huésped. La dosis administrada debe ser una "cantidad eficaz" o una cantidad necesaria para lograr un "nivel eficaz" en cada paciente.

Dado que el "nivel eficaz" se usa como el criterio de valoración preferido para la dosificación, la dosis real y el programa pueden variar, dependiendo de las diferencias individuales en la farmacocinética, la distribución el fármaco y el metabolismo. El "nivel eficaz" se puede definir, por ejemplo, como el nivel en sangre o tejido deseado en el paciente que corresponde a una concentración de una o más composiciones de acuerdo con la invención.

Las composiciones farmacéuticas que contienen una composición de la presente invención se pueden preparar mediante técnicas convencionales, por ejemplo, según lo descrito en "Remington: The Science and Practice of Pharmacy" 1995, editado por E. W. Martin, Mack Publishing Company, décimo novena edición, Easton, Pa. Las composiciones pueden aparecer en las formas convencionales, por ejemplo, cápsulas, comprimidos, aerosoles, soluciones, suspensiones o aplicaciones tópicas.

Formulaciones

Aunque es posible administrar las composiciones o las sales de la presente invención en forma del producto químico en bruto, es preferible presentarlas en forma de una formulación farmacéutica. Por consiguiente, la presente invención proporciona además una formulación farmacéutica, para aplicación medicinal, que comprende una composición de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como se define en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones de la presente invención se pueden formular en una amplia variedad de formas de dosificación de administraciones orales. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación pueden comprender las composiciones de la invención o su sal farmacéuticamente aceptable o una forma cristalina de las mismas como componente activo. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos dispersables. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes humectantes, agentes disgregantes de comprimidos o un material encapsulante.

Preferentemente, la composición será del aproximadamente 0,5 % al 75 % en peso de una composición o composiciones de la invención, consistiendo el resto en excipientes farmacéuticos adecuados. Para la administración oral, dichos excipientes incluyen grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio, y similares.

En los polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que es una mezcla con el componente activo finamente dividido. En los comprimidos, el componente activo se mezcla con el vehículo que tiene la capacidad de unión necesaria en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y comprimidos contienen preferentemente del uno al aproximadamente setenta por ciento de la composición activa. Los vehículos adecuados son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao, y similares. El término "preparación" pretende incluir la formulación de la composición activa con material de encapsulación como vehículo que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin vehículos, está rodeado por un vehículo, que está en asociación con él. De manera similar, se incluyen sellos y pastillas para chupar. Los comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, sellos y pastillas para chupar pueden ser formas sólidas adecuadas para la administración oral.

También se incluyen preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para la administración oral. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromas, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes de suspensión y emulsionantes, y similares.

Otras formas adecuadas para la administración oral incluyen preparaciones en forma líquida que incluyen emulsiones, jarabes, elixires, soluciones acuosas, suspensiones acuosas, pasta de dientes, dentífrico de gel, goma de mascar, o preparaciones en forma sólida que están destinadas a convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida. Las emulsiones se pueden preparar en soluciones en soluciones acuosas de propilenglicol o pueden contener agentes emulsionantes tales como lecitina, monooleato de sorbitán o goma arábica. Las soluciones acuosas se pueden preparar suspendiendo o mezclando el componente activo en agua y añadiendo agentes colorantes, aromatizantes, estabilizantes y espesantes. Las suspensiones acuosas se pueden preparar dispersando el componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, y otros agentes de suspensión bien conocidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen suspensiones y emulsiones, y pueden contener, además del componente activo, colorantes, sabores, estabilizantes, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, y similares.

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración parenteral (por ejemplo, por inyección, por ejemplo, inyección de bolo o infusión continua) y se pueden presentar en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen, o en recipientes multidosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, por ejemplo, soluciones en polietilenglicol acuoso. Los ejemplos de vehículos oleosos o no acuosos, diluyentes, disolventes o vehículos incluyen propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales (por ejemplo, aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables (por ejemplo, oleato de etilo), y pueden contener agentes de formulación tales como agentes conservantes, humectantes, emulsionantes o de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido mediante el aislamiento aséptico de sólido estéril o por liofilización a partir de solución para la constitución antes de su uso con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos.

Los aceites útiles en las formulaciones parenterales incluyen aceite de petróleo, animal, vegetal o sintético. Los

ejemplos específicos de aceites útiles en dichas formulaciones incluyen aceite de cacahuete, soja, sésamo, semilla de algodón, maíz, oliva, vaselina y mineral. Los ácidos grasos adecuados para su uso en las formulaciones parenterales incluyen ácido oleico, ácido esteárico y ácido isoesteárico. El oleato de etilo y miristato de isopropilo son ejemplos de ésteres de ácidos grasos adecuados.

- 5 Los jabones adecuados para su uso en las formulaciones parenterales incluyen sales de metales alcalinos grasos, de amonio y de trietanolamina, y los detergentes adecuados incluyen (a) detergentes catiónicos tales como, por ejemplo, haluros de dimetildialquilamonio y haluros de alquilpiridinio; (b) detergentes aniónicos tales como, por ejemplo, sulfonatos de alquilo, arilo y de olefina, sulfatos de alquilo, olefina, éter y monoglicérido, y sulfosuccinatos; (c) detergentes no iónicos tales como, por ejemplo, óxidos de aminas grasas, alcanolamidas de ácidos grasos y copolímeros de polioxietileno-polipropileno; (d) detergentes anfóteros tales como, por ejemplo, alquil-β-aminopropionatos y sales de amonio cuaternario de 2-alquil-imidazolina; y (e) mezclas de los mismos.

15 Las formulaciones parenterales contendrán normalmente del aproximadamente 0,5 al aproximadamente 25 % en peso del principio activo en solución. Se pueden usar conservantes y tampones. Con el fin de minimizar o eliminar la irritación en el sitio de inyección, dichas composiciones pueden contener uno o más tensioactivos no iónicos que tengan un equilibrio hidrófilo-lipófilo (HLB) de aproximadamente 12 a aproximadamente 17. La cantidad de tensioactivo en dichas formulaciones normalmente variará del aproximadamente 5 al aproximadamente 15 % en peso. Los tensioactivos adecuados incluyen ésteres de ácidos grasos de polietilensorbitán, tales como monooleato de sorbitán y los aductos de alto peso molecular de óxido de etileno con una base hidrófoba, formados por la condensación del óxido de propileno con propilenglicol. Las formulaciones parenterales se pueden presentar en recipientes sellados monodosis o multidosis, tales como ampollas y viales, y se pueden almacenar en estado criodesecado (liofilizado) que solo requiere la adición del excipiente líquido estéril, por ejemplo, agua, para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Las soluciones y suspensiones para inyección extemporánea se pueden preparar a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente.

25 Las composiciones de la invención también se pueden administrar por vía tópica. Las zonas para la administración tópica incluyen la superficie de la piel y también los tejidos de las membranas mucosas de la vagina, el recto, la nariz, la boca y la garganta. Las composiciones para la administración tópica a través de la piel y membranas mucosas no deben dar lugar a signos de irritación tales como hinchazón o enrojecimiento.

30 La composición tópica puede incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable adaptado a la administración tópica. Por lo tanto, la composición puede adoptar la forma, por ejemplo, de una suspensión, solución, pomada, loción, lubricante sexual, crema, espuma, aerosol, pulverizado, supositorio, implante, inhalante, comprimido, cápsula, polvo seco, jarabe, bálsamo o pastilla para chupar. Los procedimientos para preparar dichas composiciones son bien conocidos en la industria farmacéutica.

35 Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración tópica en la epidermis en forma de pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Las pomadas y cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o agentes gelificantes adecuados. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes. Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden agentes activos en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un vehículo líquido adecuado.

45 Las cremas, las pomadas, los geles, los bálsamos o las pastas de acuerdo con la presente invención son formulaciones semisólidas del principio activo para aplicación externa. Se pueden preparar mezclando el principio activo en forma finamente dividida o en polvo, solo o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria adecuada, con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abeja, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, cacahuete, ricino u oliva; grasa de lana o sus derivados o un ácido graso tal como ácido estérico u oleico junto con un alcohol tal como propilenglicol o un macrogel. La formulación puede llevar incorporado cualquier agente tensioactivo adecuado tal como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico tal como un éster de sorbitán o un derivado de polioxietileno del mismo. También se pueden incluir agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silíceas, y otros ingredientes tales como lanolina.

55 Las lociones de acuerdo con la presente invención incluyen las adecuadas para aplicarse en la piel o en los ojos. En una realización preferida, las lociones de la presente invención son para aplicación tópica en la piel. Una loción ocular puede comprender una solución acuosa estéril que contenga opcionalmente un bactericida y se puede preparar mediante procedimientos similares a los de la preparación de gotas. Las lociones o los linimentos para aplicación en la piel también pueden incluir un agente para acelerar el secado y enfriar la piel, tal como un alcohol o acetona, y/o un humectante tal como glicerol o un aceite tal como aceite de ricino, jojoba, aceite de cacahuete,

aceite de *Simmondsia chinensis*, aceite de la fruta *Olea europaea*, aceite de *Aracis hypogae*, aceite de *Prunus amygdalus dulcis*.

En una realización de la presente invención, la composición está en forma de un bálsamo labial, gel, máscara, pomada, crema, loción y/o champú.

5 Administración transdérmica

Los complejos de agente farmacéutico-modificador químico descritos en el presente documento se pueden administrar por vía transdérmica. Por lo general, la administración transdérmica implica la administración de un agente farmacéutico para el paso percutáneo del fármaco en la circulación sistémica del paciente. Los sitios de la piel incluyen regiones anatómicas para la administración transdérmica del fármaco, e incluyen el antebrazo, abdomen, pecho, espalda, nalgas, área mastoidea, y similares.

La administración transdérmica se realiza mediante la exposición de una fuente del complejo a la piel de un paciente durante un período prolongado de tiempo. Los parches transdérmicos tienen la ventaja adicional de proporcionar una administración controlada de un complejo de agente farmacéutico-modificador químico en el cuerpo. Véase "Transdermal Drug Delivery: Developmental Issues and Research Initiatives", Hadgraft y Guy (eds.), Marcel Dekker, Inc., (1989); "Controlled Drug Delivery: Fundamentals and Applications", Robinson y Lee (eds.), Marcel Dekker Inc., (1987); y "Transdermal Delivery of Drugs", Vol 1-3, Kydonieus y Berner (eds.), CRC Press, (1987). Dichas formas de dosificación se pueden preparar mediante disolución, dispersión o incorporando de otra manera el complejo de agente farmacéutico-modificador químico a un medio apropiado, tal como un material de matriz elastomérica. También se pueden usar potenciadores de la absorción para aumentar el flujo de la composición a través de la piel. La velocidad de dicho flujo se puede controlar proporcionando una membrana controladora de la velocidad o dispersando la composición en una matriz polimérica o un gel.

Administración transdérmica pasiva de fármacos

Una variedad de tipos de parches transdérmicos encontrará uso en los procedimientos descritos en el presente documento. Por ejemplo, se puede preparar un parche adhesivo simple a partir de un material de soporte y un adhesivo de acrilato. Se formulan el complejo de agente farmacéutico-modificador químico y cualquier potenciador en la solución de moldeo de adhesivo y se dejan mezclar a fondo. Se vierte la solución directamente sobre el material de soporte y se evapora el disolvente de moldeo en un horno, dejando una película adhesiva. Para completar el sistema, se puede unir el revestimiento de liberación.

Como alternativa, se puede emplear un parche de matriz de poliuretano para administrar el complejo de agente farmacéutico-modificador químico. Las capas de este parche comprenden un soporte, una matriz de fármaco/potenciador de poliuretano, una membrana, un adhesivo, y un revestimiento de liberación. La matriz de poliuretano se prepara usando un prepolímero de poliuretano de curado a temperatura ambiente. La adición de agua, alcohol y complejo al prepolímero produce la formación de un elastómero firme pegajoso que se puede verter directamente solo en el material de soporte.

Una realización adicional de la presente invención utilizará un parche de matriz de hidrogel. Por lo general, la matriz de hidrogel comprenderá alcohol, agua, fármaco y varios polímeros hidrófilos. Esta matriz de hidrogel se puede incorporar a un parche transdérmico entre el soporte y la capa adhesiva.

El parche de depósito de líquido también encontrará uso en los procedimientos descritos en el presente documento. Este parche comprende un material de soporte termosellable, impermeable o semipermeable, una membrana termosellable, un adhesivo cutáneo sensible a la presión a base de acrilato y un revestimiento de liberación siliconizado. El soporte se termosella a la membrana para formar un depósito que luego se puede llenar con una solución del complejo, potenciadores, agente gelificante y otros excipientes.

Los parches de matriz de espuma tienen un diseño y componentes similares al sistema de depósito de líquido, excepto que la solución de agente farmacéutico-modificador químico gelificada está limitada a una capa de espuma delgada, normalmente un poliuretano. Esta capa de espuma está situada entre el soporte y la membrana que se han termosellado en la periferia del parche.

Para los sistemas de administración pasiva, la velocidad de liberación normalmente se controla mediante una membrana situada entre el depósito y la piel, por difusión desde un dispositivo monolítico o por la propia piel que sirve como barrera que controla la velocidad en el sistema de administración. Véanse las patentes de EE.UU. N° 4.816.258; 4.927.408; 4.904.475; 4.588.580, 4.788.062; y similares. La velocidad de administración del fármaco dependerá, en parte, de la naturaleza de la membrana. Por ejemplo, la velocidad de administración de fármacos a través de membranas del interior del organismo es generalmente mayor que a través de las barreras dérmicas. La velocidad a la que el complejo se administra desde el dispositivo a la membrana se controla más ventajosamente mediante el uso de membranas limitantes de la velocidad que se colocan entre el depósito y la piel. Suponiendo que la piel es suficientemente permeable al complejo (es decir, la absorción a través de la piel es mayor que la velocidad de paso a través de la membrana), la membrana servirá para controlar la velocidad de dosificación

experimentada por el paciente.

Los materiales de las membranas permeables adecuados se pueden seleccionar basándose en el grado deseado de permeabilidad, la naturaleza del complejo y las consideraciones mecánicas relacionadas con la construcción del dispositivo. Los ejemplos de materiales de membranas permeables incluyen una amplia variedad de polímeros naturales y sintéticos, tales como polidimetilsiloxanos (cauchos de silicona), copolímero de acetato de etilenvinilo (EVA), poliuretanos, copolímeros de poliuretano-poliéter, polietilenos, poliamidas, cloruros de polivinilo (PVC), polipropilenos, policarbonatos, politetrafluoroetilenos (PTFE), materiales celulósicos, por ejemplo, triacetato de celulosa y nitrato/acetato de celulosa e hidrogeles, por ejemplo, 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA).

El dispositivo puede contener otros artículos tales como otros componentes convencionales de productos terapéuticos, dependiendo de las características de los dispositivos deseados. Por ejemplo, las composiciones de acuerdo con la presente invención también pueden incluir uno o más conservantes o agentes bacteriostáticos, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, clorocresol, cloruros de benzalconio, y similares. Estas composiciones farmacéuticas también pueden contener otros principios activos tales como agentes antimicrobianos, particularmente antibióticos, anestésicos, analgésicos y agentes antipruriginosos.

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración en forma de supositorios. Primero se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como una mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao y se dispersa homogéneamente el componente activo, por ejemplo, por agitación. Luego se vierte la mezcla homogénea fundida en moldes de tamaño conveniente, se dejan enfriar y solidificar.

La composición activa se puede formular en un supositorio que comprende, por ejemplo, del aproximadamente 0,5 % al aproximadamente 50 % de una composición de la invención, dispuesta en un vehículo de polietilenglicol (PEG) (por ejemplo, PEG 1000 [96 %] y PEG 4000 [4 %]).

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración vaginal. En la técnica, se conocen pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizados que contienen, además del principio activo, dichos vehículos.

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración nasal. Las soluciones o suspensiones se aplican directamente en la cavidad nasal por medios convencionales, por ejemplo, con un cuentagotas, una pipeta o un pulverizador. Las formulaciones se pueden proporcionar en forma monodosis o multidosis. En el último caso de un cuentagotas o una pipeta, esto se puede realizar administrando al paciente un volumen predeterminado apropiado de la solución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto se puede realizar, por ejemplo, por medio de una bomba de pulverización por atomización dosificadora.

Las composiciones de la presente invención se pueden formular para la administración en aerosol, particularmente en el tracto respiratorio e incluyendo la administración intranasal. La composición generalmente tendrá un tamaño de partícula pequeño, por ejemplo, del orden de 5 micrómetros o inferior. Dicho tamaño de partícula se puede obtener por medios conocidos en la técnica, por ejemplo, por micronización. El principio activo se proporciona en un envase presurizado con un propulsor adecuado tal como un clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. El aerosol también puede contener convenientemente un tensioactivo tal como lecitina. La dosis de fármaco se puede controlar mediante una válvula dosificadora. Como alternativa, los principios activos se pueden proporcionar en forma de un polvo seco, por ejemplo, una mezcla de polvo de la composición en una base de polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP). El vehículo en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición en polvo se puede presentar en forma de dosis unitaria, por ejemplo, en cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina o en envases de blíster a partir de los cuales el polvo se puede administrar por medio de un inhalador.

Cuando se desee, las formulaciones se pueden preparar con recubrimientos entéricos adaptados a la administración de liberación sostenida o controlada del principio activo.

Las preparaciones farmacéuticas están preferentemente en formas de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades diferenciadas de preparación, tales como comprimidos envasados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. También, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, un comprimido, un sello o una pastilla para chupar, o puede ser el número apropiado de cualquiera de éstas en forma envasada.

Sales farmacéuticamente aceptables

También se pretenden englobar en la presente invención las sales farmacéuticamente aceptables de las presentes composiciones, en las que se pueden preparar. Estas sales serán las que son aceptables en su aplicación a un uso farmacéutico. Ello pretende significar que la sal conservará la actividad biológica de la composición precursora y que la sal no tendrá efectos adversos ni perjudiciales en su aplicación ni uso en el tratamiento de enfermedades

Las sales farmacéuticamente aceptables se preparan de una manera convencional. Si la composición precursora es una base, se trata con un exceso de un ácido orgánico o inorgánico en un disolvente adecuado. Si la composición precursora es un ácido, se trata con una base inorgánica u orgánica en un disolvente adecuado.

- 5 Las composiciones de la invención se pueden administrar en forma de una sal de metal alcalino o de metal alcalinotérreo de la misma, concurrentemente, simultáneamente o junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable, especial y preferentemente en forma de una composición farmacéutica del mismo, bien por oral, rectal o parenteral (incluyendo la subcutánea), en una cantidad eficaz.

- 10 Los ejemplos de sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables para su uso en la composición farmacéutica de la presente invención incluyen las derivadas de ácidos minerales, tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico, y ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, ácido tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, *p*-toluenosulfónico y arilsulfónico.

Vehículo farmacéutico

- 15 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y composiciones que no producen ninguna reacción alérgica, tóxica u otro tipo de reacción adversa cuando se administran a un animal, particularmente a un mamífero, y más particularmente a un ser humano. Los vehículos farmacéuticos aceptables incluyen todos y cada uno de entre disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, estabilizantes, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de dichos medios y agentes para sustancias farmacéuticas activas es bien conocido en la técnica.

- 20 Los vehículos sólidos ilustrativos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábiga, estearato de magnesio, ácido esteárico y similares. Un vehículo sólido puede incluir una o más sustancias que también pueden actuar como agentes aromatizantes, lubricantes, solubilizantes, agentes de suspensión, cargas, deslizantes, adyuvantes de compresión, aglutinantes o agentes desintegrantes de comprimidos; pudiendo ser también un material encapsulante. En los polvos, el vehículo es un sólido finamente dividido que está mezclado con el principio activo finamente dividido. En los comprimidos, el principio activo se mezcla con un vehículo que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas, y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y los comprimidos contienen preferentemente hasta el 99 % del principio activo. Los vehículos sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, quitina, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio de iones.

- 30 Los vehículos líquidos ilustrativos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, agua, etc. Los vehículos líquidos se usan en la preparación de soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. El principio activo se puede disolver o suspender en un vehículo líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos, o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El vehículo líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizantes, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colorantes, reguladores de la viscosidad, estabilizantes u osmorreguladores. Los ejemplos adecuados de vehículos líquidos para la administración oral y parenteral incluyen agua (que contiene parcialmente aditivos como los anteriores, por ejemplo, derivados de celulosa, preferentemente solución de carboximetilcelulosa sódica), alcoholes (incluyendo alcoholes monohídricos y alcoholes polihídricos, por ejemplo, glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de coco fraccionado y aceite de cacahuete). Para la administración parenteral, el vehículo también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los vehículos líquidos estériles son útiles en las composiciones estériles en forma líquida para la administración parenteral. El vehículo líquido para composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propulsor farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas líquidas que son soluciones o suspensiones estériles se pueden utilizar, por ejemplo, mediante inyección intramuscular, intraperitoneal o subcutánea. Las soluciones estériles también se pueden administrar por vía intravenosa. La composición también se puede administrar por vía oral en forma de composición bien líquida o sólida.

- 50 El vehículo o excipiente puede incluir material de retardo temporal bien conocido en la técnica, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo junto con una cera, etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, metacrilato de metilo y similares. Cuando se formula para la administración oral, se ha reconocido que Tween 80 al 0,01 % en PHOSAL PG-50 (concentrado de fosfolípido con 1,2-propilenglicol, A. Nattermann & Cie. GmbH) proporciona una formulación oral aceptable para otros compuestos, y se puede adaptar a las formulaciones para diversas composiciones de la presente invención.

- 55 "Terapia de combinación" (o "coterapia") incluye la administración de la composición de la invención y al menos un segundo componente como parte de un régimen de tratamiento específico destinado a proporcionar el efecto beneficioso por la acción conjunta de estos agentes terapéuticos. El efecto beneficioso de la combinación incluye, pero sin limitación, acción farmacocinética o farmacodinámica conjunta resultante de la combinación de agentes

terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación normalmente se lleva a cabo durante un período de tiempo definido (normalmente minutos, horas, días o semanas dependiendo de la combinación seleccionada).

"Terapia de combinación" puede pretender, pero generalmente no pretende, abarcar la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes monoterapéuticos separados que casual y arbitrariamente dan como resultado las combinaciones de la presente invención. "Terapia de combinación" pretende abarcar la administración de estos agentes terapéuticos de una manera secuencial, es decir, en la que cada agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como la administración de estos agentes terapéuticos, o al menos dos de los agentes terapéuticos, de una manera sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo, mediante la administración al sujeto de una única cápsula que tenga una proporción fija de cada agente terapéutico o de múltiples cápsulas individuales para cada uno de los agentes terapéuticos.

La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico se puede efectuar por cualquier vía apropiada incluyendo, pero sin limitación, vías tópicas, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y la absorción directa a través de tejidos de membranas mucosas. Los agentes terapéuticos se pueden administrar por la misma vía o por vías diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada se puede administrar por inyección, mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación se pueden administrar por vía tópica.

Propiedades estimulantes del sistema inmune y antiinflamatorias

Sin el deseo de quedar vinculados a teoría alguna, se cree que una respuesta inmune adaptativa se basa en células especiales tales como linfocitos T, linfocitos B y macrófagos. En presencia de virus/células patógenos (infección), las células auxiliares de tipo 1 (células de tipo Th1) se activan y liberan citocinas específicas de tipo Th-1 tales como interleucina-2 (IL-2) e interferón- γ (IFN- γ). El IFN- γ induce entonces una alta producción de especies tóxicas de oxígeno reactivo (ROS) en macrófagos, así como la inducción de enzimas tales como indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y GTP ciclohidrolasa I (GCH). Estas enzimas son responsables de la conversión del triptófano (trp) en quinurina (quin) y neopterina. Estas son dirigidas a destruir estructuras vitales tales como lípidos y proteínas, y a inhibir la proliferación de las células y los patógenos. Las ROS también desencadenan cascadas de transducción de señales intracelulares redox sensibles que incluyen el factor nuclear κ -B; (NF- κ -B), que a su vez acelera la producción de citocinas proinflamatorias tales como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α). Durante períodos prolongados de activación de tipo Th1, por ejemplo, en las infecciones crónicas, hay una producción continua de ROS que, a su vez, amplifica la liberación de citocinas proinflamatorias y también conduce al agotamiento de las combinaciones de antioxidación y, por lo tanto, a la aparición de estrés oxidativo. La determinación de citocinas es especialmente limitada debido a su corta vida en circulación. La respuesta inmune de tipo Th-1 activada se puede detectar fácilmente con sensibilidad al monitorizar los mensajeros secundarios de IFN- γ .

Durante la respuesta inmune de tipo Th-1, los linfocitos T activados liberan grandes cantidades de citocinas tales como IL-2 o IFN- γ , que median las funciones proinflamatorias fundamentales para el desarrollo de las respuestas inmunes mediadas por células. Además de otras vías, el IFN- γ derivado de linfocitos T también induce la activación de la enzima indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) en los macrófagos, que convierte el triptófano en N-formilquinurenina, que posteriormente se desforma en quinurenina (Wirleitner y otros, 2003). La IDO desempeña un papel central en la supresión de bacterias intracelulares y virus durante una respuesta inmune antimicrobiana, pues la degradación en curso del triptófano limita la biosíntesis de proteínas debido a la privación de este aminoácido esencial (Pfefferkorn 1986; Ozaki y otros 1988). En las enfermedades que están asociadas con la inflamación y la activación inmune, la aceleración de la degradación del triptófano se manifiesta en concentraciones de triptófano en suero reducidas y mayores proporciones de quinurenina con respecto al triptófano (quin/trp), como una medida de la actividad de IDO. En paralelo a la degradación del triptófano, el IFN- γ también estimula la formación de neopterina, a través de la inducción de la enzima guanosina-trifosfato-(GTP)-ciclohidrolasa, lo que representa otro marcador para la activación del eje linfocitos T-macrófagos en los seres humanos (Huber y otros 1984; Wirleitner y otros, 2003). Debido a la corta semivida de las citocinas, cuya medición suele ser difícil, la medición de la actividad IDO y la formación de neopterina proporcionan una metodología con fundamento para evaluar la modulación de una respuesta inmune de tipo Th-1 en las PBMC humanas.

En el curso de la enfermedad con una respuesta inmune celular activada, hay simultáneamente un aumento de la producción de la neopterina y una degradación del triptófano en quinurenina. Los datos disponibles sugieren que por medio de las mediciones de la neopterina y la quin/trp, se hace viable un control sensible de la respuesta inmune que, en el curso de la enfermedad crónica, permite obtener conclusiones sobre el estrés oxidativo en los pacientes.

Además de la medición de la producción de la neopterina y la degradación del triptófano, da una visión directa de la interacción entre los linfocitos T y los macrófagos, y también están directamente relacionados con la patogénesis de las enfermedades que incluyen procesos inflamatorios.

Por tanto, se pueden medir fácilmente las propiedades antiinflamatorias así como las propiedades antioxidantes de los compuestos que se sabe o se reivindica que son antiinflamatorios y/o antioxidantes mediante el control de la disminución de la producción de neopterinina y el aumento concomitante de la proporción quin/trp en los glóbulos sanguíneos estimulados por mitógenos tales como concavalina A o fitohemaglutinina *in vitro*.

- 5 Las propiedades inmunoestimulantes y antiinflamatorias de la composición de la presente invención se describen en los Ejemplos 14 y 16 y en las Figuras 11-23.

Propiedades estimulantes del crecimiento

- 10 Una de las primeras respuestas de reparación tras una lesión en el tejido es la migración de las células supervivientes y su proliferación sobre cualquier superficie desnuda para restablecer la integridad epitelial. Dado que es sumamente difícil estudiar este efecto dentro de un ser humano o un animal, comúnmente, se usan modelos de cultivo celular como marcadores indirectos de esta respuesta promigratoria.

- 15 Se realizaron ensayos de proliferación celular usando procedimientos bien establecidos (Nakayama *et al.*, 1997) usando Alamar azul (Invitrogen, Paisley, Reino Unido) de acuerdo con las instrucciones del fabricante que medían el cambio en la absorbancia. Para los ensayos de proliferación, se usaron las células HT29 de línea celular de carcinoma de colon humano. La viabilidad celular, determinada por la capacidad para excluir el azul de tripano al 0,2 %, fue superior al 90 % en todos los experimentos.

- 20 En resumen, se sembraron células a 2.000 células/pocillo y se cultivaron en DMEM que contenía glutamina y suero de ternero fetal al 10 % en placas de 96 pocillos durante la noche. Al día siguiente, se lavaron las células con DMEM solo y se incubaron con 1, 5 o 10 mg/ml de preparación de proteína de calostro (v/v) con o sin Euxyl o con Euxyl al 1 %, 0,3 % o 0,06 % (concentraciones equivalentes a las encontradas en las muestras que contienen Euxyl) y se incubaron en condiciones de privación de suero durante 24 horas. Las células incubadas en DMEM + FCS al 10 % se usaron como control positivo, mientras que las células incubadas en DMEM solo se usaron como control negativo. Al día siguiente, se añadió azul Alamar a cada pocillo y se determinó el cambio de absorbancia a 570 nm tras 3-5 horas (Ejemplo 15, Fig. 3).

Propiedades de estabilidad proteolítica

- 25 La estabilidad proteolítica se usa para describir la resistencia de una proteína dada hacia la proteólisis, es decir, la hidrólisis de los enlaces peptídicos (amida) en la proteína o el péptido. En particular, la estabilidad proteolítica se refiere a la resistencia hacia la acción de enzimas proteolíticas, también conocidas como proteasas, es decir, enzimas que catalizan la hidrólisis de la proteína o del péptido. En una realización de la presente invención, el calostro aglomerado o bioconjugado y dicho al menos un agente tiene una mayor estabilidad frente a la hidrólisis de ácidos por las proteasas, en comparación con el calostro aglomerado sin dicho al menos un agente. En otra realización, la composición bioconjugada de la presente invención tiene una mayor estabilidad proteolítica en comparación con una composición alternativa que comprende calostro y/o dicho al menos un agente, en la que dicha composición alternativa no está bioconjugada. En una realización preferida dicho al menos un agente es ácido hialurónico, y el calostro bioconjugado o parte del mismo y el ácido hialurónico son resistentes a la proteólisis a pH 5 durante al menos 24 horas (Ejemplo 9, Fig. 2).

Procedimiento de preparación

- 30 En un aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de la composición descrita en el presente documento que comprende las etapas de a) proporcionar calostro o parte del mismo; b) proporcionar al menos un agente; c) mezclar dicho calostro o parte del mismo y dicho al menos un agente; d) proporcionar al menos un agente de reticulación; e) mezclar dicho calostro o parte del mismo, dicho al menos un agente y dicho al menos un agente de reticulación; f) obtener un bioconjugado. La etapa e) equivale a la bioconjugación de la composición de la presente invención. La etapa f) equivale a la obtención de una composición bioconjugada. En una realización, la bioconjugación se realiza en un tampón con acidez en el intervalo de pH 6,0-8,0, sin embargo, un intervalo preferido es pH 7,0-7,5. En el procedimiento de bioconjugación de la etapa e), la bioconjugación se agita a una velocidad en el intervalo de 300 rpm-800 rpm en presencia de tampón. El bioconjugación se realiza en el tampón a una temperatura en el intervalo de 2 °C-45 °C, sin embargo, una temperatura preferida está en el intervalo de 20 °C-35 °C.

- 40 La bioconjugación de la composición se puede obtener con ayuda de un agente de reticulación no limitado a los reticulantes enumerados en el presente documento. El agente de reticulación se puede seleccionar, por ejemplo, entre EDC/NHS o sus derivados, transglutaminasa o sus derivados, tirosinasa o sus derivados y/o dihidroxiacetona o sus derivados. Como alternativa, el agente de reticulación se selecciona entre azidas de arilo y/o polifenol oxidasas o sus derivados como se describe en el presente documento. Pertenece al alcance de la presente invención el uso de una combinación de dos o más agentes de reticulación seleccionados entre los agentes enumerados en el procedimiento. En una realización preferida, el agente de reticulación usado en el procedimiento es EDC/NHS o DHA.

En una realización, el calostro y al menos un agente se disuelve por separado antes de la etapa c) de mezcla de dicho calostro y dicho al menos un agente.

La mezcla del calostro y el al menos un agente y al menos un agente de reticulación de la etapa e) es en una realización en combinación con la agitación de la mezcla para obtener partículas de tamaños deseados. La agitación se realizó de 200 rpm a 1.000 rpm, de 300 rpm a 800 rpm, preferentemente a 400 rpm o 500 rpm.

Se aprecia que un aspecto de la presente invención se refiere a una composición que se puede obtener mediante el procedimiento de preparación según lo descrito en el presente documento.

Usos

En una realización, la presente invención se refiere a una composición para su uso como un medicamento. En otra realización, la presente invención comprende una composición y/o composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas. Por ejemplo, un aspecto se refiere a una composición farmacéutica que comprende la composición según lo descrito en el presente documento. En una realización preferida, la presente invención comprende una composición farmacéutica que comprende además un vehículo farmacéutica y/o fisiológicamente aceptable para el tratamiento de enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas.

Un vehículo puede facilitar el transporte de los ingredientes de dicha composición hacia el sitio de acción, por ejemplo, unido covalentemente bien directamente o a través de un enlazador químico. Los vehículos eficaces incluyen proteínas tales como albúminas y/o péptidos y polisacáridos tales como aminodextrano. Un vehículo también puede transportar los ingredientes de dicha composición no unido covalentemente o por encapsulación, tal como dentro de una vesícula de liposoma u otros biovesículas.

Las enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas que se pueden tratar mediante la composición y/o composición farmacéutica de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en eczema solar, eczemas de etiología desconocida, erupciones cutáneas, afecciones cutáneas con picor, enrojecimiento irritado, ictiosis, vitiligo, soriasis, heridas, heridas postoperatorias, marcas de mordeduras, grietas, úlceras, úlceras diabéticas, úlceras labiales, labios agrietados, cicatrices, celulitis, afecciones cutáneas causadas por bacterias, afecciones cutáneas causadas por virus, afecciones cutáneas causadas por hongos, afecciones cutáneas causadas por insectos, en particular, mosquitos, afecciones cutáneas causadas por plantas, en particular, perejil y/o ortigas, cáncer de piel, acné, espinillas, impétigo, sarna, quemaduras solares, verrugas, eritema infeccioso, tiña, herpes, úlceras, prurito, rosen, erisipela, enfermedades de la piel debidas a la absorción de compuestos a través de la piel, úlceras de decúbito, Bullosis epidermolisis, blefaritis, dermatitis atópica, herpes labial y forúnculos. Pertenece al alcance de la presente invención que cualquiera de las enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas enumeradas forman cada una su realización separada, siendo, por lo tanto, la enfermedad cutánea y/o afección cutánea de la presente invención cualquiera de entre eczema solar, eczemas de etiología desconocida, erupciones, afecciones cutáneas con picazón, enrojecimiento irritado, ictiosis, vitiligo, soriasis, heridas, heridas postoperatorias, úlceras, úlceras diabéticas, úlceras labiales, labios agrietados, afecciones cutáneas causadas por bacterias, afecciones cutáneas causadas por virus, afecciones cutáneas causadas por hongos, afecciones cutáneas causadas por insectos, afecciones cutáneas causadas por plantas, cáncer de piel, acné, impétigo, sarna, quemaduras solares, verrugas, eritema infeccioso, tiña, herpes, úlceras, prurito, enfermedades de la piel debidas a la absorción de compuestos a través de la piel, úlceras de decúbito, Bullosis epidermolisis, blefaritis, dermatitis atópica, herpes labial o forúnculos.

El eczema, también conocido como dermatitis eczematosa, incluyendo erupciones, afecciones cutáneas con picor, grietas y enrojecimiento irritado son todas afecciones caracterizadas por la inflamación de las capas superiores de la piel. Los síntomas incluyen edema cutáneo, picor y sequedad, formación de costras, descamación, ampollas, grietas, supuración y/o incluso sangrado.

Las úlceras son zonas de cicatrización retardada caracterizadas por la pérdida de la integridad en la zona afectada. Las úlceras pueden estar causadas por, o acompañadas de, una infección por bacterias, hongos y/o virus. Un ejemplo son las úlceras de decúbito. Otro ejemplo son las ampollas de herpes labial o de herpes genital causadas por el virus del herpes.

Las enfermedades cutáneas y afecciones cutáneas causadas por virus comprenden afecciones cutáneas tales como herpes labiales, que son ampollas o úlceras pequeñas, dolorosas, llenas de líquido, que aparecen en los labios, la boca o la nariz, que están causadas por un virus. Las afecciones cutáneas causadas por virus también son herpes que están causados por el virus del herpes simple. Ambas cepas de virus Herpes Simplex (VHS-1 y VHS-2) causan la enfermedad. El más común es el "herpes oral", que causa úlceras en la cara y alrededor de la boca. La segunda enfermedad más común causada por el VHS infecta los genitales, y se conoce como "herpes". Pero también hay otros trastornos tales como el panadizo herpético, herpes gladiatorum, herpes ocular (queratitis), encefalitis por infección cerebral por herpes, meningitis de Mollaret, herpes neonatal y, posiblemente, parálisis de Bell que están causados por el virus Herpes Simplex.

Las ictiosis, de las cuales la ictiosis vulgaris es, con mucho, el tipo más común, suele ser una enfermedad cutánea hereditaria, aunque también existe un tipo adquirido de ictiosis. La ictiosis se caracteriza por provocar sequedad y escamas en la piel. Los síntomas no son muy graves, generalmente picor leve y descamación leve de la piel.

5 El vitíligo es una enfermedad crónica de la piel hereditaria que se caracteriza por la pérdida de pigmento. Los síntomas incluyen manchas blancas en la piel y manchas de color marrón púrpura y/o dorado en las membranas mucosas y alrededor de los ojos, las fosas nasales y la boca.

10 La soriasis es una enfermedad inflamatoria hiperproliferativa crónica de la piel. Los síntomas son la aparición de manchas escamosas rojas de inflamación y la producción excesiva de piel, conocida como placas soriásicas, especialmente en los codos y las rodillas. Las manchas tienden a tener un aspecto de color blanco plateado a medida que la piel se va acumulando en la zona de la formación de la placa.

El forúnculo es una enfermedad cutánea causada por la infección de los folículos pilosos, lo que resulta en la acumulación localizada de pus y tejido muerto.

15 La enfermedad cutánea y/o afección cutánea que se puede tratar mediante la composición y/o la composición farmacéutica de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en eczema solar, eczemas de etiología desconocida, erupciones cutáneas, afecciones cutáneas con picor, enrojecimiento irritado, soriasis, heridas, heridas postoperatorias, úlceras, úlceras diabéticas, úlceras labiales, labios agrietados, afecciones cutáneas causadas por bacterias, afecciones cutáneas causadas por virus, afecciones cutáneas causadas por hongos, afecciones cutáneas causadas por insectos, afecciones cutáneas causadas por plantas, acné, quemaduras de sol, verrugas, eritema infeccioso, tiña, herpes, úlceras, prurito, úlceras de decúbito y herpes labial.

20 En otra realización la enfermedad cutánea y/o afección cutánea que se puede tratar mediante la composición y/o composición farmacéutica de la presente invención se selecciona del grupo que consiste en eczemas de etiología desconocida, erupciones cutáneas, afecciones cutáneas con picor, enrojecimiento irritado, soriasis, heridas, heridas postoperatorias, úlceras, úlceras diabéticas, afecciones cutáneas causadas por bacterias, afecciones cutáneas causadas por virus, afecciones cutáneas causadas por hongos, afecciones cutáneas causadas por insectos, afecciones cutáneas causadas por plantas, acné, herpes, prurito y úlceras de decúbito.

En realizaciones preferidas, las composiciones de la presente invención se usan para el tratamiento de afecciones cutáneas con picor, heridas, úlceras, eczemas y/o soriasis. En una realización especialmente preferida, las composiciones de la presente invención se usan para el tratamiento de la soriasis.

30 Por consiguiente, la presente invención se refiere al tratamiento de cualquiera de las enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas enumeradas en el presente documento que comprende la administración de la composición de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz a un animal en necesidad de la misma. Del mismo modo, la composición se puede usar para tratar una enfermedad cutánea y/o una afección cutánea en un animal. El término "animal", como se usa en el presente documento, se puede definir para que incluya seres humanos, animales domésticos o animales agrícolas (gatos, perros, vacas, ovejas, caballos, cerdos, etc.) o especies de ensayo tales como ratón, rata, conejo, etc.

40 Un aspecto de la presente invención se refiere al uso de la composición de la presente invención para la fabricación de un medicamento. En analogía, otro aspecto de la invención se refiere al uso de la composición como un medicamento. Además, la presente invención también se refiere a un procedimiento de tratamiento de afecciones cutáneas que comprende la administración de la composición de la presente invención en una cantidad terapéuticamente eficaz a un animal en necesidad de la misma.

Para el tratamiento o los usos relativos a las enfermedades cutáneas y/o trastornos cutáneos se aprecia que la composición se usa como un agente para la aplicación tópica. Dicho agente para la aplicación tópica puede estar en forma de un gel, una crema, una loción, una pomada, un champú, una máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos.

45 En otro aspecto de la presente invención, la composición se puede usar como un agente cosmético. Se aprecia que un agente cosmético puede estar en forma de un gel, una crema, una loción, una pomada, un champú, una máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos.

50 En otro aspecto más de la presente invención, la composición se puede usar como un agente humectante. Se aprecia que un agente humectante puede estar en forma de un gel, una crema, una loción, una pomada, un champú, una máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos. En un aspecto adicional de la presente invención, la composición se puede usar como un agente antiarrugas. Se aprecia que un agente antiarrugas puede estar en forma de un gel, una crema, una loción, una pomada, un champú, una máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos.

55 En otro aspecto de la presente invención, la composición se puede usar como un agente hidratante. Se aprecia que un agente hidratante puede estar en forma de un gel, una crema, una loción, una pomada, un champú, una

máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos.

El uso de la composición de la presente invención en forma de champú es ventajoso para aliviar los síntomas de enfermedades cutáneas del cuero cabelludo. Sin embargo, el champú también puede ser para uso cosmético.

- 5 En otro aspecto de la invención, la composición tiene efecto antiarrugas y se encuentra en forma de gel, crema, loción, pomada, champú, máscara o formas similares, como se ilustra en los ejemplos.

Ejemplos de usos específicos

Las picaduras de insectos, por ejemplo, las picaduras de mosquitos, dan lugar a reacciones alérgicas. La mordedura pica y se hincha. La composición de la presente invención ha mostrado un efecto positivo en el alivio del picor durante un máximo de 24 horas antes de repetir la aplicación. La inflamación disminuye en una hora.

- 10 Al encontrarse con las reacciones alérgicas provocadas por el perejil, la composición de la presente invención reducir el ardor y enrojecimiento. Las ampollas que aparecen desaparecerán tras 5 minutos. Repitiendo la aplicación de la composición de la presente invención 3-5 veces en 24 horas, la reacción alérgica desaparecerá en unos cuantos días.

- 15 El daño de la piel tras la exposición excesiva a la luz solar hará que la piel se seque, y se dañen el colágeno y las fibras elásticas. La composición de la presente invención proporcionará la humedad y los nutrientes necesarios para devolver a la piel de la espalda a su estado normal y aumentar la cantidad de colágeno y de fibras elásticas.

Las cicatrices, tanto las nuevas como las antiguas cicatrices, se hacen menos visibles tras usar la composición de la presente invención. La hidratación y la nutrición celular ayudarán a que el tejido se cure.

- 20 El contacto con la ortiga irrita la piel y provoca quemaduras. Mediante la aplicación de la composición de la presente invención se alivian las sensaciones de ardor.

- 25 El alivio de las reacciones alérgicas provocadas por la tinción del cabello, el uso de perfumes, o las reacciones alérgicas producidas por otras causas, muestran buenos resultados cuando se usa la composición de la presente invención. La piel a menudo pica y aparece enrojecimiento, de vez en cuando también aparecen forúnculos. La aplicación de la composición de la presente invención elimina el enrojecimiento y la sensación de picor. Los forúnculos se curan tras 5 días.

Las grietas del talón y las grietas de las manos se reducen cuando se usa la composición de la presente invención diariamente.

La celulitis se puede reducir mediante un masaje diario de la composición de la presente invención en la zona afectada, lo que produce la reaparición de la piel firme y sana.

- 30 Como tratamiento del acné/de las espinillas, la composición de la presente invención ha demostrado efectos positivos. Las espinillas se reducen en tamaño y en número, y el pus no emerge. Las cicatrices por acné anterior se hacen menos visibles.

Las Rosen/Erisipelas se pueden tratar mediante el uso de la composición de la presente invención. La aplicación de la composición en las zonas afectadas dos veces al día hará que los síntomas desaparezcan tras 7-9 días.

- 35 Los efectos secundarios de la penicilina incluyen erupción cutánea grave, picor y/o descamación. El uso de la composición de la presente invención alivia estos síntomas.

La aparición de hongos debajo de las uñas de las manos y de las uñas de los pies hará que estas se vuelven quebradizas y frágiles. El uso de la composición de la presente invención hará que el hongo desaparezca y ayudará a que las uñas recobren su fuerza.

- 40 Las erupciones indefinidas desaparecen tras 5-7 días de usarse la composición de la presente invención.

Las erupciones causadas por la varicela y la escarlatina se reducen mediante la aplicación de la composición de la presente invención, y los síntomas de picor y úlceras inflamadas se alivian rápidamente.

Las erupciones cutáneas crónicas y erupciones cutáneas provocadas por el afeitado desaparecen después de usar la composición de la presente invención.

- 45 Los síntomas causados por eczemas en las manos y en los pies se alivian con el uso de la composición de la presente invención.

El alivio de la irritación producida por el pañal en los bebés se logra en unos cuantos días usando la composición de la presente invención.

Las úlceras por herpes desaparecen cuando se usa la composición de la presente invención. También se evita la recurrencia de los herpes cuando se usa la composición regularmente. Las estrías después del embarazo o de una dieta de adelgazamiento también se eliminan con el uso de la composición de la presente invención.

La piel seca se hidrata con el uso de la composición de la presente invención

- 5 Las úlceras de la espinilla se curan, y el picor se alivia cuando se aplica la composición de la presente invención.

La composición de la presente invención ayuda a reducir el tamaño y el número de las arrugas, produciendo un aumento de la cantidad de colágeno y fibras de elastina en la piel.

La composición de la presente invención prevendrá la infección de las úlceras provocadas por marcas de mordeduras y las curará tras 7-10 días de aplicación de la composición.

- 10 La composición de la presente invención también aliviará los síntomas procedentes de las erupciones y/o las úlceras en los animales. Los eczemas de oreja se curan con el uso de la composición de la presente invención.

Referencias

- Averbeck M *et al.* (2007), "Differential regulation of hyaluronan metabolism in the epidermal and dermal compartments of human skin by UVB irradiation". *J Invest Dermatol* 127:687-697.
- 15 Block, A., y Bettelheim, F.: Water, "Vapor Sorption of Hyaluronic Acid", *Biochim Biophys. Acta* 201, 69, 1970.
- Campina, M. B. V., Mallee, L. F. Hendrixx A., Comelius, M. y Bronts, H. M. (WO/2001/065948) "PROTEIN PREPARATION". Withdrawn, 2002.
- Coo-Ranger, J. J., Zelisko, P. M., Brook, M. A (2004). "Ionic silicone surfactants in water-in-oil silicone oil emulsions containing proteins", *Polymer Preprints* 45:1, 674-75.
- 20 Davis J. M., Murphy E. A., Brown A. S., Carmichael M. D., Ghaffar A., Mayer E. P. (2004) "Effects of moderate exercise and oat beta-glucan on innate immune function and susceptibility to respiratory infection". *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*; 286(2):R366-72.
- Davis J. M., Murphy E. A., Brown A. S., Carmichael M. D., Ghaffar A., Mayer E. P. (2004) "Effects of oat beta-glucan on innate immunity and infection after exercise stress". *Med Sci Sports Exerc.* 36(8):1321.
- 25 Everaerts F., Torrianni M., Hendriks M., Feijen, J. "Biomechanical properties of carbodiimide crosslinked collagen: Influence of the formation of ester crosslinks". *J Biomed Mater Res A.* (2008) mayo; 85(2):547-55.
- Goa K. L. y Benfield P. (1994). "Hyaluronic Acid: A review of its Pharmacology and Use as a Surgical Aid in Ophthalmology and its Therapeutic Potential in Joint Disease and Wound Healing". *Drugs* 47: 536-566
- 30 Gu Y. H., Takagi Y., Nakamura T., Hasegawa T., Suzuki I., Oshima M., Tawaraya H., Niwano Y., "Enhancement of radioprotection and anti-tumor immunity by yeast-derived beta-glucan in mice". *J Med Food.* Verano de 2005; 8(2): 154-8
- Huber C., Batchelor J. R., Fuchs D., Hausen A., Lang A., Niederwieser D., Reibnegger G., Swetly P., Troppmair J., Wachter H. (1984). "Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma". *J Exp Med* 160:310-316.
- 35 Liu, H. (2007) "Construction of Chitosan- Gelatin-Hyaluronic Acid Artificial Skin In Vitro Journal of Biomaterials Applications", 21:4, 413-430.
- Mattson, G., E. Conklin, S. Desai, G. Nielander, M. D. Savage y S. Morgensen. (1993) "A practical approach to crosslinking". *Molecular Biology Reports* 17: 167-183,
- 40 Means, G. A., y Feeney, R. E. (1971). "Chemical Modification of Proteins". Holden Day, Inc. San Francisco, Cambridge, Londres, Amsterdam.
- Nakayama, G. R., Caton, M. C., Nova, M. P y Z. Parandoosh (1997) "Methods (Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability in vitro Journal of Immunological Methods". 204: 2, 205-208.
- Ozaki Y., Edelstein M. P., Duch D. S. (1988). "Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase: a mechanism of the antitumor activity of interferon-gamma". *Proc Natl Acad Sci (EE.UU.)* 85:1242-1246.
- 45 Pfefferkorn E. R. (1986). "Interferon-gamma blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan". *Proc Natl Acad Sci (EE.UU.)* 81:908-912.

Pongjanyakul, T. y Puttipatkhachorn, S. (2007) "Xanthan-alginate composite gel beads: Molecular interaction and in vitro characterization", *International Journal of Pharmaceutics*, 331, 1: 161-71.

Inventor: Rafkin, patente de EE.UU. N° 6.844.014, 18 de enero de 2005, "Herbal healing lotion for veterinary use".

5 Reyad, M. y Paul, S. A. "Solubility and Hydrolyzability of Films Produced by Transglutaminase Catalytic Crosslinking of Whey Protein". *Journal of Dairy Science* Vol. 76, N° 1, 1993.

Schroecksnadel, K., Fischer, B., Schennach, H. Weiss, G. y D. Fuchs (2007) "Antioxidants suppress TH1-type immune Response in vitro". *Drug Metabolism Letters* 1, 166-167.

10 Thalmann, C. R. y Lutzbeier, T. (2002) "Enzymatic crosslinking of proteins with tyrosinase". *European Food Research and Technology*, 214:4, 276-281.

WADSTEIN, Jan Fecha de publicación 16.05.2002, Solicitud internacional N° WO/2002/038123 "A SKIN CREAM COMPOSITION").

Wils, D. M., Fouchae, C., Labourse, S. (2005) "Process for crosslinking proteins with a ketose containing 3-5 carbon atoms". USAP 0130261

15 Winkler, C., Ueberall, F. y Fuchs, D. (2006) "In vitro testing for Antiinflammatory Properties of compounds". *Clinical Chemistry Letters*, 6: 52, 1201-02.

Wireleitner, B. Neurauder, G., Schracknadel, K., Fuchs, D. (2003). "Interferon gamma induced conversion of tryptophan. immunologic and neuropsychiatric aspects". *Curr. med. Chem.*, 10:1581-1591.

20 Widner, B., Werner E. R., Schennach H., Wachter H, Fuchs D. "Simultaneous measurement of serum tryptophan and kynurenine by HPLC". *Clin Chem* (1997); 43:2424-6.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de la composición de la presente invención usando EDC-NHS. Se disolvieron 2,2 g de calostro en 100 ml de tampón. A continuación, se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico en el calostro ya disuelto. Para la conjugación de proteínas y ácido hialurónico con EDC-NHS, se usan tampones de concentración entre 10-100 mM, tales como tampones de fosfato, HEPES o borato. Por lo general, la reacción de conjugación se realiza entre pH 6 y 8, y a cualquier temperatura de 4 °C a la temperatura ambiente de 30 minutos a 120 minutos. Se disolvieron individualmente las proteínas de 2,2 g de calostro de 48 horas y 0,1 g de ácido hialurónico en 100 ml de tampón de fosfato de sodio 10 mM, se añadieron 400 mg de EDC y 1,1 g de NHS a la solución de proteínas de calostro de 100 ml. Después se realizó la incubación preferentemente a temperatura ambiente, con agitación a 400-800 rpm, preferentemente a 500 rpm. Después de 30 a 120 minutos, preferentemente 90 minutos, se centrifugaron las proteínas bioconjugadas y el ácido hialurónico a 30.000 g durante 30 minutos, usando centrifugador Sorval, SLA 1500 rotor. (La etapa de centrifugación se repitió 3 veces para retirar la proteína y/o los hidrocoloides sin aglomerar). Entonces, se recogieron las proteínas bioconjugadas con el ácido hialurónico y se incorporaron a emulsión de agua en aceite, dando una crema con las propiedades descritas en las reivindicaciones.

Ejemplo 2

Preparación de la composición de la presente invención usando glutaraldehído (Means et al., 1971). El glutaraldehído se ha usado en una variedad de aplicaciones en las que es importante mantener la rigidez estructural de la proteína. Se usaron tampones de fosfato a pH 7,5 a 8,0 y tampones de HEPES con preferencia por los tampones de fosfato de sodio para el tratamiento de glutaraldehído, se disolvieron mezclas de reacción con 2,2 g de proteínas de calostro en tampón de HEPES 20 mM (pH 7,5) en un volumen total de 100 ml. A continuación, se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico en el calostro ya disuelto. Entonces, se trató la solución con 5 ml de solución recién preparada de glutaraldehído al 2,3 % durante 5-75 minutos, preferentemente 60 minutos a 15-37 °C, preferentemente a temperatura ambiente. La reacción se finalizó mediante la adición de 10 µl de Tris-HCl 1 M, pH 8,0. Después de la reacción, se centrifugaron las proteínas bioconjugadas y el ácido hialurónico a 30.000 g durante 30 minutos, usando centrifugador Sorval, SLA 1500 rotor. La etapa de centrifugación se repitió 3 veces para retirar todas las trazas de glutaraldehído. Entonces, se incorporaron las proteínas bioconjugadas con el ácido hialurónico en emulsión de agua en aceite, dando una crema con las propiedades descritas en las reivindicaciones anteriores.

50 Ejemplo 3

Preparación de la composición de la presente invención usando transglutaminasa independiente del calcio de Ajinomoto. Se disolvieron 1-10 g de proteína, preferentemente 2,2 g, en 100 ml de tampones de concentración

entre 10-100 mM, tales como fosfato, HEPES o borato, preferentemente tampón de fosfato 10 mM. A continuación, se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico en el calostro ya disuelto. Se añadieron entre 1-200 unidades de transglutaminasa, preferentemente 100 unidades a la reacción (Reyad y Paul, 1993). Por lo general, las reacciones se realizan a pH entre 6 y 8, y a cualquier temperatura de 4 °C a la temperatura ambiente durante de 30 minutos a 4 horas, preferentemente durante 4 horas con agitación a 400-800 rpm a temperatura ambiente, preferentemente agitación a 400 rpm para evitar la formación de espuma de la proteína. Tras 4 horas, se centrifugaron las proteínas bioconjugadas con ácido hialurónico a 30.000 g durante 30 minutos para recoger las proteínas bioconjugadas con ácido hialurónico (la etapa de centrifugación se repitió 3 veces para retirar la proteína y el ácido hialurónico sin conjugar) que luego se incorporaron a una crema que era una emulsión de agua en aceite o una emulsión de aceite en agua.

Ejemplo 4

Preparación de la composición de la presente invención usando tirosinasa (Thalmann y Lutzbeyer, 2002) de Sigma. Se disolvieron las proteínas (2,2 mg/ml de calostro) en tampón de fosfato de sodio 10 mM. A continuación, se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico en el calostro ya disuelto. Se solubilizaron diferentes cantidades de ácido cafeico de 0 a 10 mM en una mezcla de etanol y fosfato de sodio 10 mM (2:5, p/p). Se disolvió tirosinasa en agua desionizada. Para la reacción de aglomeración, se añadieron 4 ml de la solución de proteína recién preparada a 500 µl de la solución de ácido cafeico, preferentemente 5 mM, y 500 µl de tampón de fosfato de sodio 10 mM, respectivamente. Se inició la reacción mediante la adición de 500 µl de la solución de tirosinasa (100-500 U/ml), preferentemente a una concentración de 330 U/ml. Tras un tiempo de incubación de 1-12 horas, preferentemente un tiempo de incubación de 3 horas, con agitación entre 400-700 rpm, se añadieron 500 µl de un tampón [8 ml de agua, 2 ml de tris-(hidroximetil)-aminometano/HCl (0,5 M, pH 6,8), 1,6 ml de glicerina, 0,8 ml de mercaptoetanol, 0,4 ml de azul de bromofenol (0,05 %), 0,25 g de SDS]. Para los experimentos de referencia, las muestras se prepararon mediante la sustitución de la solución de tirosinasa de la mezcla de reacción con agua (12). Después de la reacción de aglomeración, se centrifugaron las proteínas bioconjugadas y el ácido hialurónico a 30.000 g durante 30 minutos, para recoger las proteínas bioconjugadas con el ácido hialurónico que luego se incorporaron a una crema que era una emulsión de agua en aceite. La etapa de centrifugación se repitió 3 veces para retirar la proteína y el ácido hialurónico sin bioconjugar antes de su incorporación a la crema.

Ejemplo 5

Preparación de la composición de la presente invención usando dihidroxiacetona (DHA). Se disolvieron las proteínas (1,5 mg/ml de calostro) en tampón de fosfato de sodio 10 mM. A continuación, se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico en el calostro ya disuelto. Entonces se añadió del 10 al 30 % p/p con respecto a la concentración de proteína de DHA para iniciar la reacción (14). La concentración preferible de DHA por usar es de aproximadamente el 20 %. Tras un tiempo de incubación de 60-180 minutos, preferentemente un tiempo de incubación de 90 minutos con agitación entre 400-700 rpm, se centrifugaron las proteínas bioconjugadas con ácido hialurónico a 30.000 g durante 30 minutos para recoger las proteínas bioconjugadas con ácido hialurónico (la etapa de centrifugación se repitió 3 veces para retirar la proteína y el ácido hialurónico sin bioconjugar), que luego se incorporaron a una crema que era una emulsión de agua en aceite.

Ejemplo 6

Preparación de la composición de la presente invención usando azidas de arilo. Las azidas de arilo son reactivos con grupos reticulantes fotorreactivos. Cuando una azida de arilo se expone a luz UV, forma un grupo nitreno que puede iniciar reacciones de adición con dobles enlaces, la inserción en sitios CH y N-H o la posterior expansión del anillo para reaccionar como un nucleófilo con aminas primarias.

Los ejemplos de azidas de arilo incluyen azida de fenilo, azida de hidroxifenilo, azida de nitrofenilo, azida de tetrafluorofenilo.

En condiciones experimentales de laboratorio, se disolvió calostro (2,2 mg/ml) en tampón de fosfato 10 mM y se mezcló junto con la azida de fenilo (100 mM) en un tubo Eppendorf, y se expuso a la luz UV entre 254 y 366 nm durante 30 minutos. Esto dio lugar a que las proteínas solubles se convirtieran en bioconjugado y, por lo tanto, se volvieran insolubles. Se centrifugó el tubo Eppendorf a 14.000 rpm/30 minutos en un centrifugador Eppendorf para recoger las proteínas bioconjugadas.

Ejemplo 7

Producción de nanopartículas a pequeña escala

- Se agitaron 2,2 g de polvo de calostro con 70 ml de tampón de fosfato 10 mM, pH 7,4 durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Se disolvieron 0,1 g de ácido hialurónico (HyaCare, Novozymes) por agitación lentamente calentando en 25 ml de tampón de fosfato 10 mM, pH 7,4, y se mezcló con el anterior calostro disuelto.
- Se disolvieron 400 mg de DHA en 5 ml de tampón de fosfato 10 mM, pH 7,4, y luego se mezcló con el

calostro disuelto y el ácido hialurónico, y se agitó a 600 rpm durante 90 minutos. La reacción se llevó a cabo a diferentes temperaturas, 5 °C, 10 °C, 15 °C y a temperatura ambiente. Los mejores resultados se obtuvieron a 15 °C y a temperatura ambiente (Fig. 1A, 1B).

- 5 d. A continuación, se centrifugó la suspensión anterior usando un centrifugador de alta velocidad Sorvall a 30.000 g durante 40 minutos para hacer sedimentar las nanopartículas de calostro que luego se recogieron y se usaron en la formulación de crema.

Para visualizar las nanopartículas, se montó una gotita del calostro bioconjugado y se sometió a microscopía de fuerza atómica usando un escáner AFM con palanca de luz (Modelo N° P-01-0,005-0) de Pacific Nanotechnology (Fig. 1).

10 **Determinación de la cantidad de calostro bioconjugado**

a1. Se disuelve polvo de calostro entero en tampón de fosfato y se mide la concentración de proteína total usando el ensayo de proteína BioRad.

- 15 b1. Tras la producción de las nanopartículas bioconjugadas como se ha descrito anteriormente, se mide la concentración total de proteína del sobrenadante de la muestra centrifugada usando el ensayo de proteína BioRad.

c1. Luego se calcula la cantidad de calostro bioconjugado como la diferencia entre la concentración de proteína medida en la etapa a1 anterior y la concentración de proteína medida en la etapa b1 anterior.

20 **Ejemplo 8**

Componentes de calostro (calostro recién extraído, congelado o secado entre 0-72 h del ordeño).

Para que la composición de la presente invención sea eficaz, el calostro debe comprender los siguientes componentes:

- 25 a. Lactoferrina a una concentración de 10-50 µg/ml de proteínas bioconjugadas, preferentemente aproximadamente 35 µg.
- b. β-lactoglobulina a una concentración de 2.000-3.000 ng/ml de proteína bioconjugada, preferentemente 2.300 ng/ml.
- 30 c. α-lactoalbúmina a una concentración de 2.000-3.000 ng/ml de proteína bioconjugada, preferentemente 2.200 ng/ml.
- d. IgG a una concentración de 3-8 mg/ml de proteína bioconjugada, preferentemente 4 mg/ml de proteína bioconjugada.
- 35 e. IgA a una concentración de 0,08-2,00 mg/ml de proteína bioconjugada, preferentemente 0,15 mg/ml de proteína bioconjugada.
- f. IgM a una concentración de 1-3 mg/ml, preferentemente 1 mg/ml de proteína bioconjugada.
- 40 g. IGF-1 a una concentración de 2-10 ng/ml de proteína bioconjugada, preferentemente de 5 ng/ml de proteína bioconjugada.

Ejemplo 9

- 45 **Protocolo de tratamiento con proteasa de los bioconjugados de calostro bajos en lactosa con y sin los hidrocoloides.** Se dispersaron los bioconjugados en tampón a pH 5,6 y, a la dispersión, se añadió la proteasa ácida. Se incubaron las mezclas de reacción a 25 °C con agitación a 150 rpm durante 4 días. Se extrajeron alícuotas de las mezclas a las 20, 48 y 96 horas, y se calentaron a 80 °C durante 5 minutos para inactivar la proteasa. A continuación, se centrifugó la mezcla a 15.000 rpm, obteniéndose el sedimento que contenía los bioconjugados. El sobrenadante contenía la proteína hidrolizada por parte de la proteasa de los bioconjugados. El
- 50 ensayo de proteínas (BioRad) de los sobrenadantes tras el tratamiento con proteasa y la dispersión de los bioconjugados originales dan una imagen de la acción de la proteasa en los bioconjugados y la estabilidad de las partículas bioconjugadas contra la acción de la proteasa (Fig. 2). Las proteínas conjugadas junto con los hidrocoloides son mucho más estables contra la actividad proteolítica que las proteínas conjugadas con el hidrocoloide (Fig. 2)

55 **Ejemplos 10-13**

En los siguientes ejemplos, el componente "agente de suero de calostro" es el calostro bioconjugado e hidrocoloide, en el que el hidrocoloide es ácido hialurónico.

Ejemplo 10

Ingredientes – Gel para la piel	Cantidad (% p/p)
Agua	67,442
Agente de suero de calostro	19,4
Fenoxietanol	1,116
Etilhexilglicerina	0,124
Ácido cítrico	0,145
Hialuronato de sodio	0,1
Zumo de hoja de <i>Aloe barbadensis</i>	9,925
Iminodisuccinato tetrasódico	0,068
Goma de xantano	1,5
Sorbato de potasio	0,005
Sulfito de sodio	0,005
Benzoato de sodio	0,02
Deshidroacetato de sodio	0,15

Ejemplo 11

Ingredientes – Loción labial	Cantidad (% p/p)
Agua	59,7
Agente de suero de calostro	6,79
Benzoato de sodio	0,4
Cetearilolivato, olivato de sorbitán	4
Oliwax	3
<i>Butyrospermum parkii</i>	10
Aceite de <i>Simmondsia chinensis</i>	10
Cera alba	4
Tocoferol	0,2
Acilodimetilaurato de amonio	1
Ácido cítrico	0,18
Etilhexilglicerina	0,045
Fenoxietanol	0,675
Hialuronato de sodio	0,01

Ejemplo 12

Ingredientes – Loción para la piel	Cantidad (% p/p)
Agua	56,207
Cocoilglutamato de sodo	4,5
Agente de suero de calostro	14,55
Fenoxietanol	0,99
Etilhexilglicerina	0,11
<i>Butyrospermum parkii</i>	7,5
Aceite de semilla de <i>Simmondsia chinensis</i>	7,5
Aceite de <i>Prunus amygdalus dulcis</i>	5,0
Polímero reticulado de acrilatos/acrilato de alquilo C ₁₀₋₃₀	1,0
Benzoato de sodio	0,4
Goma de xantano	0,5
Iminodisuccinato tetrasódico	0,068
Tocoferol	0,201
Retinilpalmitato	0,0555
Aceite de <i>Arachis hypogaea</i>	0,0435
Ácido cítrico	0,7
Cloruro de sodio	0,675

Ejemplo 13

Ingredientes – Crema para la piel	Cantidad (% p/p)
Aqua	42,8
Aceite de <i>Prunus amygdalus dulcis</i>	15,0
Suero de calostro	14,45
Manteca de <i>Butyrospermum parkii</i>	10,0
<i>Aloe barbadensis</i>	9,925
Cetil-PEG/PPG-10/1 Dimeticona	3,0
Cera Alba	2,0
Tocoferol	1,0
Ácido cítrico	0,045
Etilhexilglicerina	0,045
Cloruro de sodio	0,5
Fenoxietanol	0,905
Sorbato de potasio	0,005
Benzoato de sodio	0,22
Sulfito de sodio	0,005
Hialuronato de sodio	0,1

Ejemplo 14

Efecto inmunoestimulante y antiinflamatorio. El sistema modelo en el que se usan células PBMC activas se ha instaurado bien en la inmunología clínica, y permite la estandarización de la activación de los linfocitos T y la interacción entre linfocitos T y macrófagos (1). El mitógeno PHA aumenta significativamente la degradación del triptófano en células PBMC humanas. Tras la incubación conjunta de las células con los ingredientes de calostro, esta actividad se inhibe de forma dependiente de la dosis. Se ha demostrado previamente (4) que esta vía inmunobioquímica bioquímica es estimulada en PBMC activadas por la citocina de tipo Th1 IFN- γ liberada de los linfocitos T estimulados.

14a. Cultivo de células:

Se aislaron células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) recién obtenidas de sangre entera de donantes sanos por centrifugación de densidad (Lymphoprep, Nycomed Pharma AS, Oslo, Noruega) y se mantuvieron en medio RPMI 1640 (PAA Laboratories, Linz, Austria) suplementado con suero de ternera fetal inactivado por calor al 10 % (Gibco, Invitrogen, Austria), L-glutamina 2 mM (Serva, Heidelberg, Alemania) y 50 μ g/ml de gentamicina (Bio-Whittaker, Walkersville, MD), y se estimularon con mitógenos (1). Se sembraron las células PBMC a una densidad de $1,5 \times 10^6$ células/ml, y se preincubaron con los componentes de calostro durante 30 min antes de la estimulación con fitohemaglutinina (PHA). La concentración de mitógeno de 10 μ g/ml era óptima para la detección de los efectos supresores de los compuestos. Se incubaron las células durante 48 h a 37 °C y CO₂ al 5 %, y tras ello, se recogieron los sobrenadantes.

Las mediciones de la formación de neopterina mediante procedimientos tales como ELISA y/o la degradación del triptófano por HPLC se usaron como lecturas convenientes; donde ambos efectos bioquímicos son inducidos por el interferón- γ en los macrófagos humanos (2).

14b. Activación de PBMC

Se sembraron PBMC a una densidad de 3×10^6 células/ml en medio de cultivo completo, y se expusieron a las preparaciones de calostro con y sin el conservante Euxyl PE9010 a concentraciones que variaron de 30 a 40 mg/ml, y se diluyeron de 5 a 500 veces. Para ensayar el efecto de las preparaciones de calostro en los linfocitos activados, se incubaron conjuntamente las PBMC con las preparaciones de calostro y el mitógeno fitohemaglutinina (PHA, Sigma). Tras 48 h de incubación, se recogieron los sobrenadantes de cultivo por centrifugación y se congelaron a -20 °C hasta su medición. Todos los experimentos se realizaron en cuatro experimentos independientes con PBMC en dos a tres paralelos.

14c. Medición

Se midieron las concentraciones de triptófano y la degradación del producto quinurenina en sobrenadantes de cultivo mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), usando 3-nitro-L-tirosina como patrón externo [3]. Mediante el cálculo de la proporción de la concentración de quinurenina con respecto a la concentración de triptófano (= quin/trp) se estima la actividad de la enzima IDO. La producción de neopterina se determinó por ELISA (BRAHMS, Berlín, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante con un límite de detección de 2 nM.

14d. Viabilidad celular

Para controlar la viabilidad celular, se recogieron PBMC tras la centrifugación y se tiñeron con la sonda de ADN yoduro de propidio. Este tinte solo atraviesa la membrana de las células necróticas, destacando el ADN de estas células. El análisis se realizó en un clasificador de células activado por fluorescencia (Coulter Epics XLMCL, Beckman-Coulter).

14e. Análisis estadístico

Se realizó el análisis estadístico usando la prueba de U de Mann-Whitney. Se consideraron los valores de p inferiores a 0,05 para indicar las diferencias significativas.

Resultados

Los resultados se resumen en las Figuras 11-18.

Recogida de todos los resultados, incluyendo los estadísticos

Los gráficos anteriores incluyen los datos sobre las células no estimuladas y las células estimuladas. Los datos estadísticos siempre se comparan con el correspondiente control. La neopterina, quinurenina y quin/trp se dan como el porcentaje de cambio de la línea basal (controles estimulados o no estimulados). Los resultados del triptófano se dan como el porcentaje de cambio del triptófano presente en el medio de cultivo suministrado.

Hay al menos dos conclusiones interesantes:

1. En las células estimuladas con PHA, la preparación de calostro sin el conservante suprime la degradación del triptófano inducida por mitógenos (curiosamente, no se produce dicho efecto en la producción de neopterina) de una manera dependiente de la dosis (Fig. 11). El Euxyl tiene un efecto más potente, y cuando se añade Euxyl al calostro, el efecto supresor también se vuelve más potente (Fig. 11) y también es activo para suprimir la producción de neopterina (Fig. 13). En resumen, esto muestra un efecto antiinflamatorio en el eje de Th 1 de la respuesta inmune.

2. En las células no estimuladas, el calostro tiene un efecto estimulante sobre la producción de neopterina (Fig. 14) y sobre la degradación del triptófano (Fig. 12), mientras que el Euxyl sigue teniendo un efecto inhibitor (Fig. 12) (como en las células estimuladas - siempre hay alguna actividad basal menor pero detectable de las enzimas implicadas). Esto puede explicar que la adición de Euxyl al calostro contrarresta el efecto del calostro puro sobre la producción de neopterina (Fig. 14) y sobre la degradación del triptófano (Fig. 12). En parte, es todavía más sorprendente ver que la mayor dilución del calostro parece tener un efecto más potente, especialmente, en la degradación del triptófano en las células no estimuladas (Fig. 12).

Conclusiones

En el presente estudio, se ha demostrado que los ingredientes del calostro actúan de manera proestimulante (estimulan la producción de neopterina) en células CMSP no estimuladas en reposo, lo que puede corresponder a las propiedades antivirales/antitumorales del extracto.

Con los estudios anteriores, se ha demostrado que los ingredientes del calostro de la crema muestran *in vitro* tanto un efecto antiinflamatorio en las células PBMC estimuladas con PHA, como un efecto inmunoestimulante sobre el sistema inmunológico en reposo.

También se ha demostrado el efecto de la crema de calostro *in vivo* en la piel de varios sujetos que sufren eczema y soriasis, enfermedades relacionadas con el sistema inmune, como se observa en las imágenes de pacientes antes y después del uso de la crema de calostro.

Ejemplo 15

Proliferación celular. Se realizaron ensayos de proliferación celular usando procedimientos bien establecidos (2) con azul Alamar (Invitrogen, Paisley, Reino Unido) de acuerdo con las instrucciones del fabricante, midiendo el cambio en la absorbancia. Para los ensayos de proliferación, se usaron células HT29 de la línea celular de carcinoma de colon humano. La viabilidad celular, determinada por la capacidad para excluir azul de tripano al 0,2 %, fue superior al 90 % en todos los experimentos.

Protocolo del estudio

En resumen, se sembraron células a 2.000 células/pocillo y se cultivaron en DMEM que contenía glutamina y suero de ternero fetal al 10 % en placas de 96 pocillos durante la noche. Al día siguiente, se lavaron las células con DMEM solo y se incubaron con 1, 5 o 10 mg/ml de preparación de proteína de calostro (v/v) con o sin Euxyl o con Euxyl al 1 %, 0,3 % o 0,06 % (concentraciones equivalentes a las encontradas en las muestras que contienen Euxyl) y se incubaron en condiciones de privación de suero durante 24 horas. Las células incubadas en DMEM + FCS al 10 % se usaron como control positivo, mientras que las células incubadas en DMEM solo se usaron como control negativo. Al día siguiente, se añadió azul Alamar a cada pocillo y se determinó el cambio en la absorbancia a 570 nm después de 3-5 horas.

A las dos dosis más bajas (1 y 5 mg/ml) ensayadas, las tres muestras de calostro (que contenían Euxyl) estimularon la proliferación de las células HT29. Este efecto no solo se debió al Euxyl, sino que fue causado predominantemente por el calostro.

Ejemplo 16

Modulación de las cascadas de activación inmune. El objetivo del presente estudio era evaluar el impacto de las diferentes preparaciones de nanopartículas CB bioconjugadas de la presente invención sobre la respuesta inmune de tipo Th-1 en términos de degradación del triptófano y formación de neopterina en células PBMC humanas no estimuladas y estimuladas con fitohemaglutinina (PHA). Los resultados se compararon con los efectos de la lactoferrina y el conservante cosmético mundialmente aceptado Euxyl 9010, que se usó en una crema tópica para preservar los ingredientes del calostro.

Aislamiento y estimulación de PBMC humanas

Se aislaron células PBMC de sangre entera obtenida de donantes sanos, de quienes se había obtenido el consentimiento informado de que su unidad de sangre donada se iba a usar con fines científicos, si no se usaba con otros fines. La separación de las células sanguíneas se realizó mediante centrifugación de densidad (Lymphoprep, Nycomed Pharma AS, Oslo, Noruega). Tras el aislamiento, se lavaron las PBMC tres veces en solución salina tamponada con fosfato que contenía EDTA al 0,2 % [0,5 mmol/l]. Se mantuvieron las células en

medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal inactivado por calor al 10 % (Biochrom, Berlín, Alemania), 1 % de 200 mmol/l de glutamina (Serva, Heidelberg, Alemania) y 0,1 % de gentamicina (50 mg/ml, Bio-Whittaker, Walkersville, MD) en un ambiente humidificado que contenía CO₂ al 5 % durante 48 h. Dicho procedimiento se observó antes de revelar mejores resultados reproducibles al aplicarse para el ensayo de los efectos antiinflamatorios de compuestos o fármacos (Widner *et al.*, 1997). El contenido medio de triptófano en el medio RPMI 1640 suplementado era de 31,5 µmol/l. Para cada uno de los tres experimentos realizados por duplicado, las células PBMC eran recién preparadas. Se sembraron las PBMC aisladas a una densidad de $1,5 \times 10^6$ células/ml en RPMI 1640 suplementado, se preincubaron durante 30 minutos con o sin preparaciones de CB y se estimularon o no con 10 µg/ml de PHA durante 48 h.

Medición de las concentraciones de triptófano, quinurenina y neopterinina

Tras la incubación de las células durante 48 h, se recogieron los sobrenadantes por centrifugación y se midieron las concentraciones de triptófano y quinurenina mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) usando 3-nitro-L-tirosina como patrón interno (Widner y otros 1997). Para estimar la actividad de IDO, se calculó la proporción del triptófano con respecto a la quinurenina (quin/trp) y se expresó como µmol de quinurenina/mmol de triptófano (Widner *et al.*, 1997). Las concentraciones de neopterinina se determinaron por ELISA (BRAHMS, Hennigsdorf/Berlín, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante con un límite de detección de 2 nmol/l.

Medición de la viabilidad celular

Tras la incubación de las células PBMC y THP-1, se midió la viabilidad celular mediante el ensayo de MTT (bromuro de 3-[4,5-dimetildiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolio; Sigma, Viena, Austria) y mediante el procedimiento de exclusión con azul de tripano en tres experimentos realizados por triplicado. No se pudo observar toxicidad en el intervalo de concentraciones aplicado (datos no mostrados).

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico, se usó el paquete estadístico para Ciencias Sociales (versión 14 de SPSS, Chicago, III, EE.UU.). Debido a que no todos los conjuntos de datos mostraron una distribución normal, para la comparación de los datos agrupados, se aplicaron la prueba no paramétrica de Friedman y la prueba de Wilcoxon. Se consideraron los valores de *p* inferiores a 0,05 para indicar diferencias significativas.

Resultados

Los resultados del Ejemplo 16 se describen a continuación y se resumen en las Figuras 19-23.

Efecto de las preparaciones de calostro bovino (CB) sobre el metabolismo del triptófano y la formación de neopterinina en células mononucleares de sangre periférica humana no estimuladas (PBMC)

Los sobrenadantes de PBMC no estimuladas, cultivados durante 48 h en condiciones de cultivo convencionales, contenían $30,4 \pm 1,9$ µmol/l de triptófano y $0,9 \pm 0,16$ µmol/l de quinurenina, dando lugar a una proporción del triptófano con respecto a la quinurenina (quin/trp) de $28,1 \pm 3,6$ µmol/mmol, como una medida de la actividad de IDO espontánea. En los mismos sobrenadantes, se detectaron concentraciones de neopterinina de $3,6 \pm 0,4$ nmol/l (Fig. 19).

El tratamiento de PBMC con 0,2 mg/ml de CB, que contenía bajas cantidades de lactosa, aumentó la actividad de IDO aproximadamente dos veces ($199,7 \pm 29,2$ %), mientras que se pudo observar una reducción significativa de la actividad de IDO hasta $72,2 \pm 5,9$ % a una dosis de 20 mg/ml. El CB con mayores cantidades de lactosa no influyó significativamente en el metabolismo del triptófano, y la aplicación de solo lactoferrina inhibió la actividad de la 2,3-dioxigenasa (IDO) no hasta una dosis de 20 mg/ml ($54,7 \pm 5,0$ %; Fig. 20A). En cuanto a la formación de neopterinina, el CB con bajas cantidades de lactosa portaba la mayor capacidad para inducir la formación de neopterinina a dosis de 0,2 mg/ml ($258,5 \pm 30,0$ %) y el CB con altas cantidades de lactosa indujo un aumento comparable de la formación de neopterinina a 2 mg/ml hasta $235 \pm 22,3$ %. La lactoferrina solo indujo un aumento moderado de neopterinina a 0,2 o 2 mg/ml hasta $125 \pm 2,8$ % o $132 \pm 4,1$ %, respectivamente (Fig. 20B).

Otra preparación de calostro bajo en lactosa indujo potentemente la actividad de IDO a 2 mg/ml hasta $1.122,0 \pm 356$ %, que se redujo mediante la adición del conservante Euxyl hasta $296,6 \pm 70,3$ % (Fig. 21A). El tratamiento de PBMC con Euxyl solo inhibió la actividad de IDO espontánea hasta $67,9 \pm 6,3$ % o $42,3 \pm 4,75$ % a dosis de 2 y 20 mg/ml, respectivamente. Los niveles de neopterinina también aumentaron con mayor potencia tras el tratamiento de las células con calostro que no contenía Euxyl (2 mg/ml: $196 \pm 21,2$ %; 20 mg/ml: $209 \pm 26,9$ %), que se redujo mediante la adición de Euxyl hasta $128 \pm 12,7$ % y $169 \pm 21,6$ % a 2 y 20 mg/ml, respectivamente. La aplicación de Euxyl solo inhibió la formación de neopterinina a dosis de 2 mg/ml hasta $90,4 \pm 4,1$ % y a 20 mg/ml hasta $76,1 \pm 1,6$ % (Fig. 21 B).

Efecto de las preparaciones de CB sobre el metabolismo del triptófano y la formación de neopterina en PBMC estimulados con PHA

Tras el tratamiento de PBMC con fitohemaglutinina (PHA) [10 µg/ml] durante 48 h, el contenido de triptófano del sobrenadante se redujo hasta $8,2 \pm 2,0$ µmol/l, mientras que las concentraciones de quinurenina aumentaron de forma concomitante hasta $9,8 \pm 1,3$ µmol/l, indicando un aumento de aproximadamente 47 veces de la actividad de IDO (quin/trp: 1.312 ± 459 µmol/mmol). En los mismos sobrenadantes, las concentraciones de neopterina se elevaron aproximadamente 3,6 veces hasta un nivel de $13,2 \pm 3,6$ nmol/l (Fig. 19).

El pretratamiento de cultivos de PBMC estimuladas con PHA con preparaciones de CB que contenían cantidades bajas o altas de lactosa o solo lactoferrina reveló una capacidad potente y dependiente de la dosis para suprimir la degradación del triptófano inducida por PHA. El CB con bajas cantidades de lactosa mostró el efecto inhibitor más potente sobre la actividad de la enzima IDO (0,2 mg/ml: $25,4 \pm 5,3$ %), seguido por el efecto de la lactoferrina (0,2 mg/ml: $34,0 \pm 9,7$ %) y el CB con mayores cantidades de lactosa ($46,0 \pm 16,6$ %). A concentraciones más altas de 2 o 20 mg/ml todas las preparaciones contrarrestaron casi completamente la degradación del triptófano estimulada por PHA en el mismo orden de intervalo de actividad (Fig. 22A). La formación de neopterina inducida por mitógenos también fue reducida por estas preparaciones de CB y lactoferrina, aunque con menor potencia en comparación con los efectos producidos sobre la degradación del triptófano (Fig. 22B). Una vez más, el CB con mayores cantidades de lactosa mostró el efecto inhibitor más débil sobre la formación de neopterina estimulada por PHA, ejerciendo una inhibición significativa hasta $70,5 \pm 7,2$ % solo a la dosis de 20 mg/ml. La potencia del CB con bajas cantidades de lactosa, teniendo efecto a 2 mg/ml ($64,0 \pm 4,8$ %) y 20 mg/ml ($37,1 \pm 3,0$ %), fue comparable al efecto de la lactoferrina (2 mg/ml: $61,3 \pm 11,7$ %; 20 mg/ml: $31,1 \pm 3,9$ %).

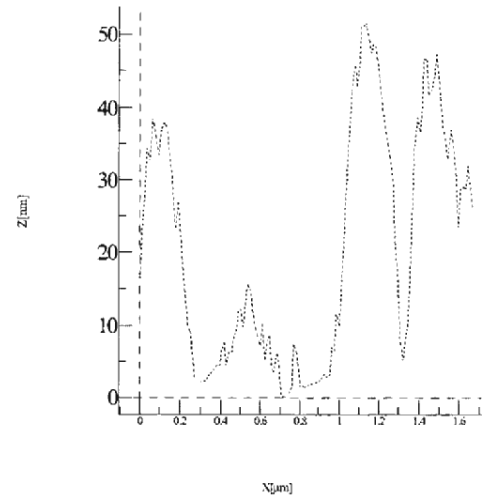
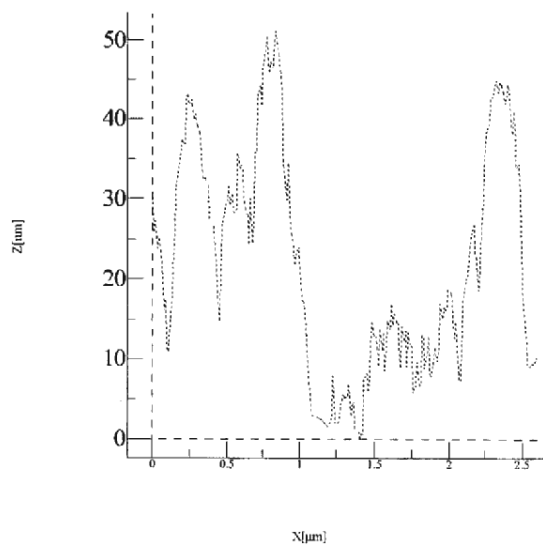
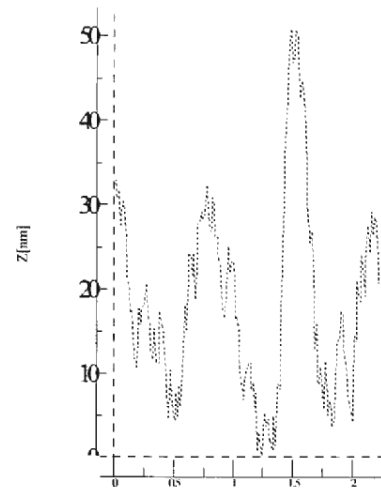
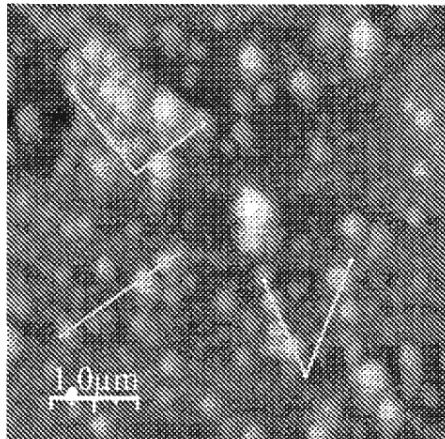
La segunda preparación de CB (bajo en lactosa) mostró una menor capacidad para contrarrestar la degradación del triptófano y la formación de neopterina inducidas por PHA en PBMC. El pretratamiento de las células con CB que no contenía Euxyl suprimió la actividad de IDO estimulada por PHA a 2 mg/ml hasta $78,2 \pm 5,0$ % y hasta $28,9 \pm 6,4$ % a 20 mg/ml, que fue ligeramente mayor mediante la adición de Euxyl hasta $74,1 \pm 11,9$ y $17,7 \pm 6,1$ %, respectivamente. El Euxyl solo suprimió la degradación del triptófano estimulada por PHA a la dosis de 2 mg/l hasta $60,1 \pm 11,0$ %, y casi completamente a 20 mg/ml hasta $2,9 \pm 0,4$ % (Fig. 23A). Curiosamente, esta preparación de CB no afectó a la formación de neopterina inducida por PHA. Una reducción significativa de la formación de neopterina estimulada por PHA con CB que contenía Euxyl, a una dosis de 20 mg/ml hasta $73,0 \pm 5,7$ %, posiblemente puede estar ligada a la capacidad de supresión del Euxyl (2 mg/ml: $85,4 \pm 3,5$ %; 20 mg/ml: $34,2 \pm 4,2$ %; Fig. 23B).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende calostro o parte del mismo y al menos un agente seleccionado entre hidrocoloides, en la que dicho calostro o parte del mismo y dicho al menos un agente están bioconjugados; en la que dichas partículas bioconjugadas tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 nm a 1 μ m; en la que dicho calostro o parte del mismo comprende al menos IgA, IgM y lactoferrina de calostro.
2. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que dicho calostro o parte del mismo es calostro bovino entero desprovisto de grasa y/o lactosa.
3. La composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho calostro o parte del mismo es calostro bovino entero.
- 10 4. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el hidrocoloide es seleccionado del grupo que consiste en goma guar, pectina y sus derivados, goma de xantano, alginato, arabinosilano, celulosa y sus derivados, carboximetilcelulosa, quitina, xilano, β -glucano, goma arábica, ácido hialurónico y gelatina.
5. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dichas partículas bioconjugadas tienen diámetros en el intervalo de 10 nm-300 nm.
- 15 6. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la cantidad de dicho calostro está en el intervalo del 1 % al 95 % p/p de la composición total.
7. La composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que en la que la cantidad de dicho al menos un agente está en el intervalo del 0,01 % al 20 % p/p de la cantidad total de calostro.
- 20 8. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad farmacéuticamente eficaz de la composición según lo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-7.
9. La composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además un vehículo farmacológico y/o fisiológicamente aceptable.
10. La composición farmacéutica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8-9 para su uso en el tratamiento de enfermedades cutáneas y/o afecciones cutáneas, estando dicha enfermedad cutánea y/o afección cutánea seleccionada del grupo que consiste eczemas de etiología desconocida, erupciones cutáneas, afecciones cutáneas con picor, enrojecimiento irritado, dermatitis atópica, soriasis, heridas, heridas postoperatorias, úlceras, úlceras diabéticas, afecciones cutáneas causadas por bacterias, afecciones cutáneas causadas por virus, afecciones cutáneas causadas por hongos, afecciones cutáneas causadas por insectos, afecciones cutáneas causadas por plantas, acné, herpes, prurito y úlceras de decúbito.
- 25 11. Un procedimiento de preparación de la composición según lo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende las etapas de:
 - a) proporcionar calostro o parte del mismo;
 - b) proporcionar al menos un agente seleccionado del grupo de hidrocoloides;
 - c) mezclar dicho calostro o parte del mismo y dicho al menos un agente;
 - 35 d) proporcionar al menos un agente de reticulación;
 - e) mezclar dicho calostro o parte del mismo, dicho al menos un agente y dicho al menos un agente de reticulación; y
 - f) obtener la composición;
- 40 en el que dicha composición comprende partículas bioconjugadas que tienen un diámetro en el intervalo de 0,1 nm a 1 μ m, y en la que dicho calostro o parte del mismo comprende al menos IgA, IgM y lactoferrina de calostro.
12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que dicho agente de reticulación de la etapa d) es seleccionado entre EDC/NHS o sus derivados y/o glutaraldehído o sus derivados y/o transglutaminasa o sus derivados y/o tirosinasa o sus derivados y/o dihidroxiacetona o sus derivados.
13. Una composición que se puede obtener mediante un procedimiento según lo definido en las reivindicaciones 11-12.
- 45 14. La composición según lo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para su uso como un medicamento.
15. La composición según lo definido en cualquiera de las reivindicaciones 1-9 para su uso como un agente para la aplicación tópica, como un agente cosmético, como un agente antiarrugas o como un agente hidratante.
16. Uso de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7 como un agente cosmético.

Figura 1

A.



B.

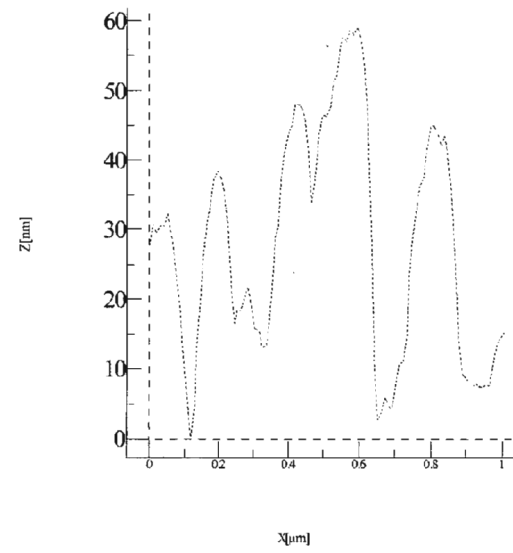
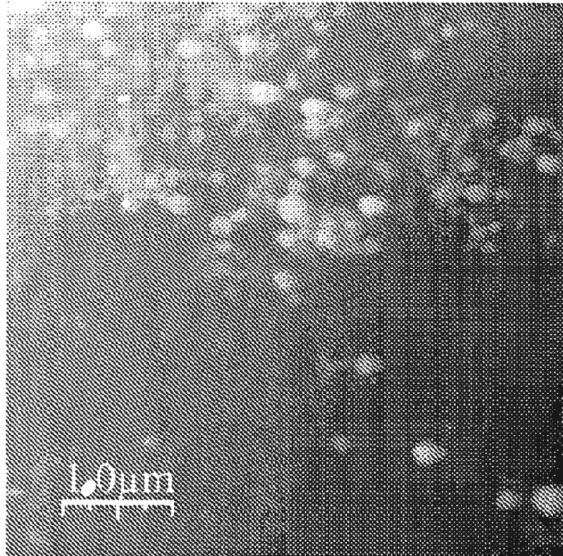


Figura 2

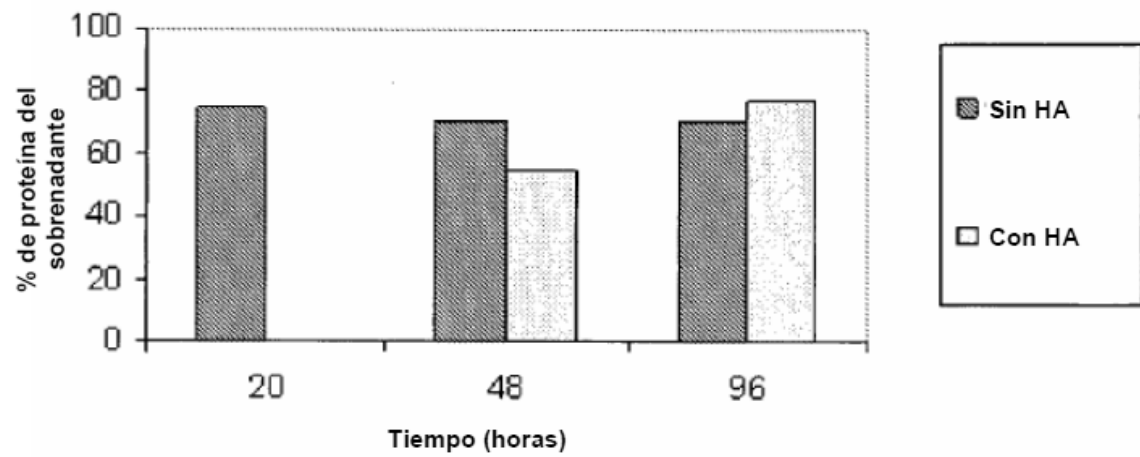


Figura 3

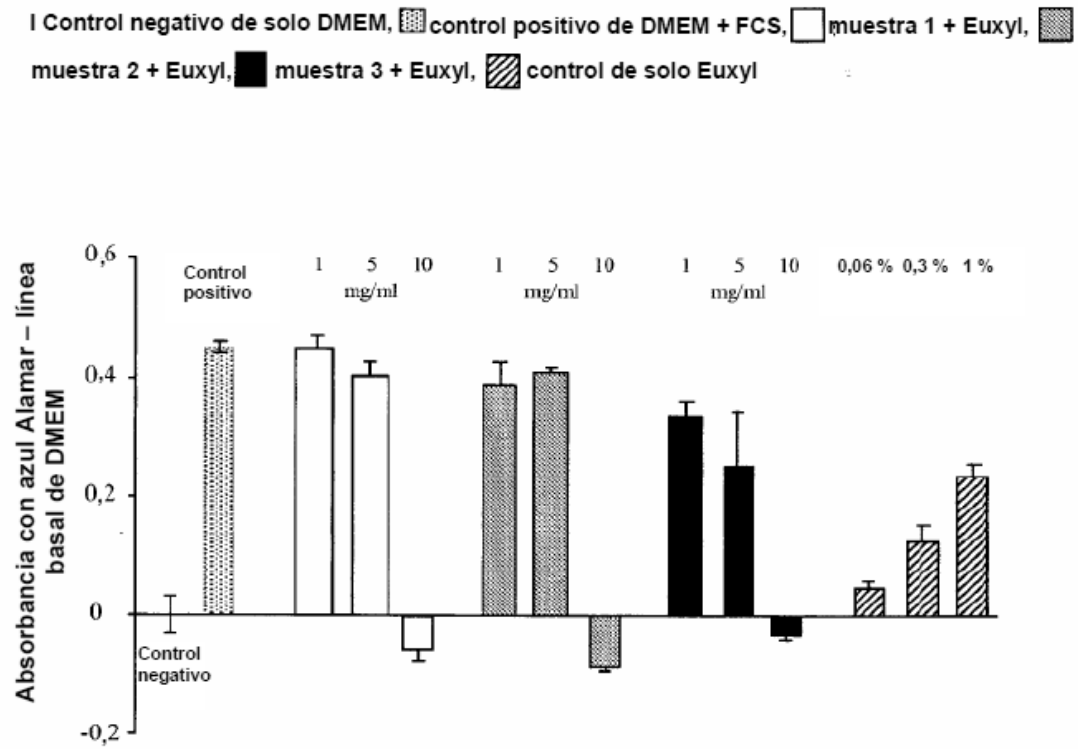


Figura 4

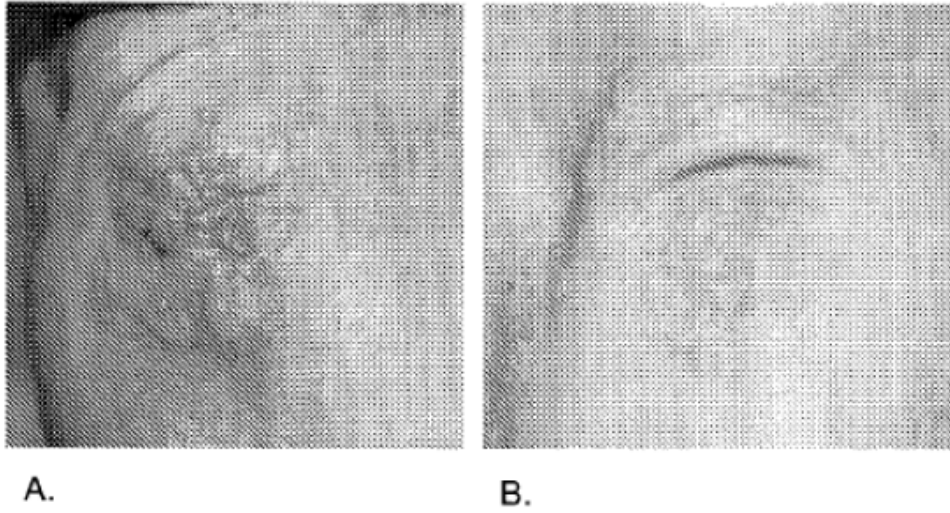


Figura 5

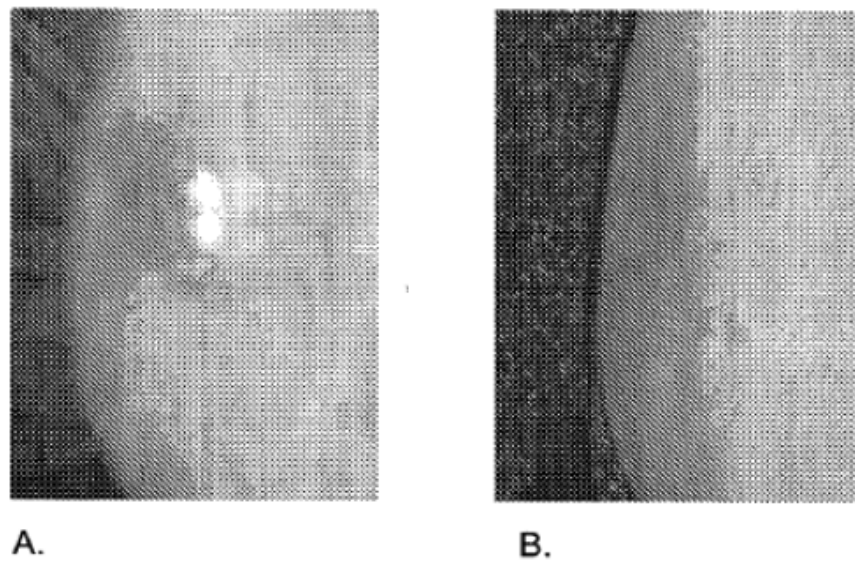
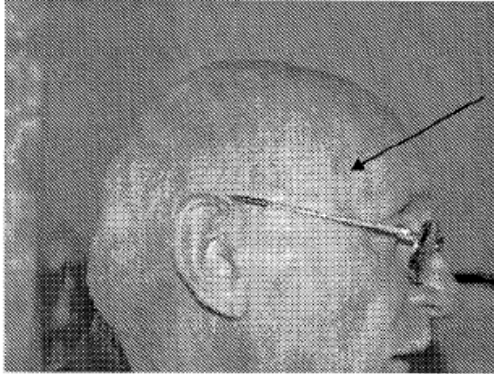
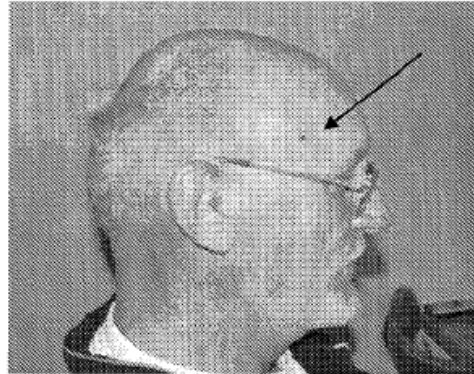


Figura 6

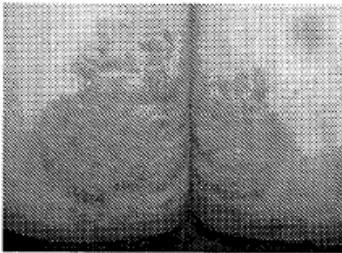


A.

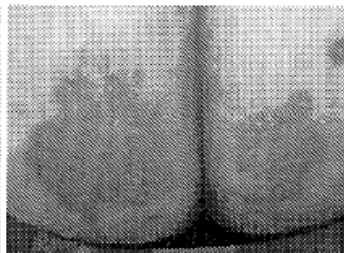


B.

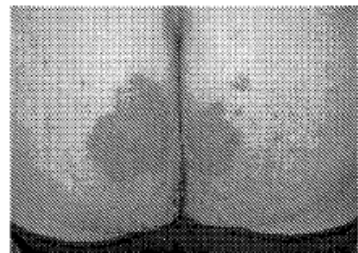
Figura 7



A.



B.



C.

Figura 8



A.



B.



C.

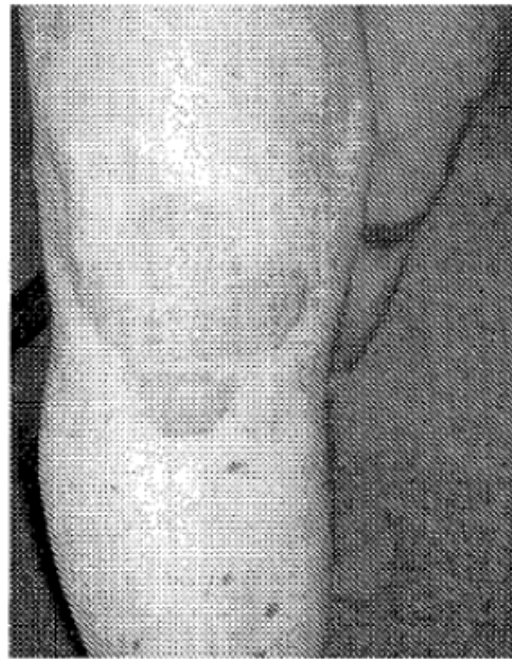


D.

Figura 9

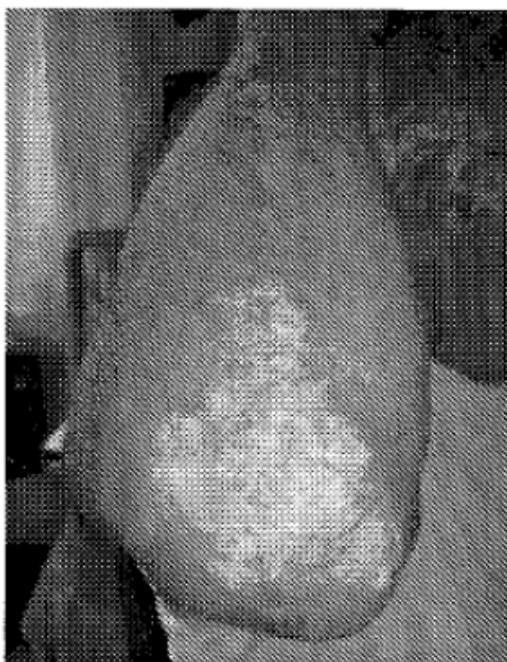


A.



B.

Figura 10



A.



B.

Figura 11

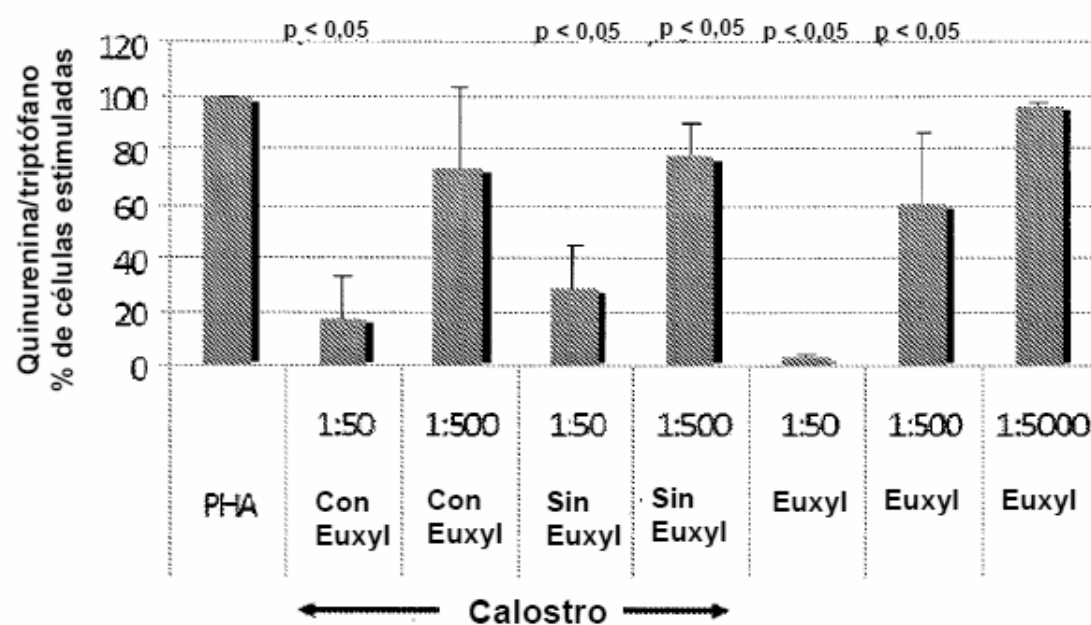


Figura 12

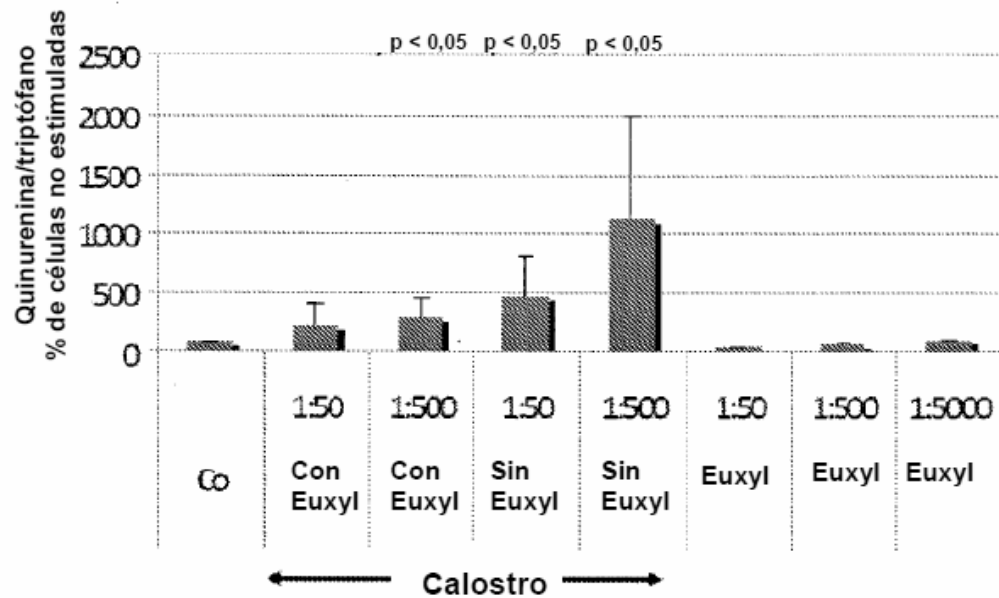


Figura 13

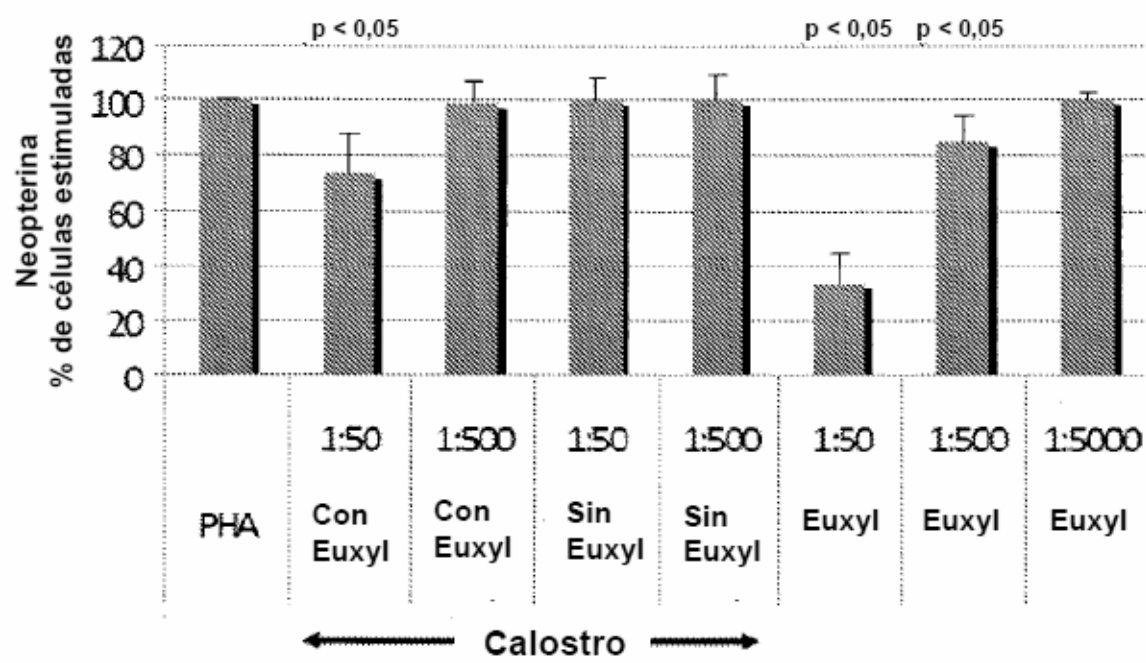


Figura 14

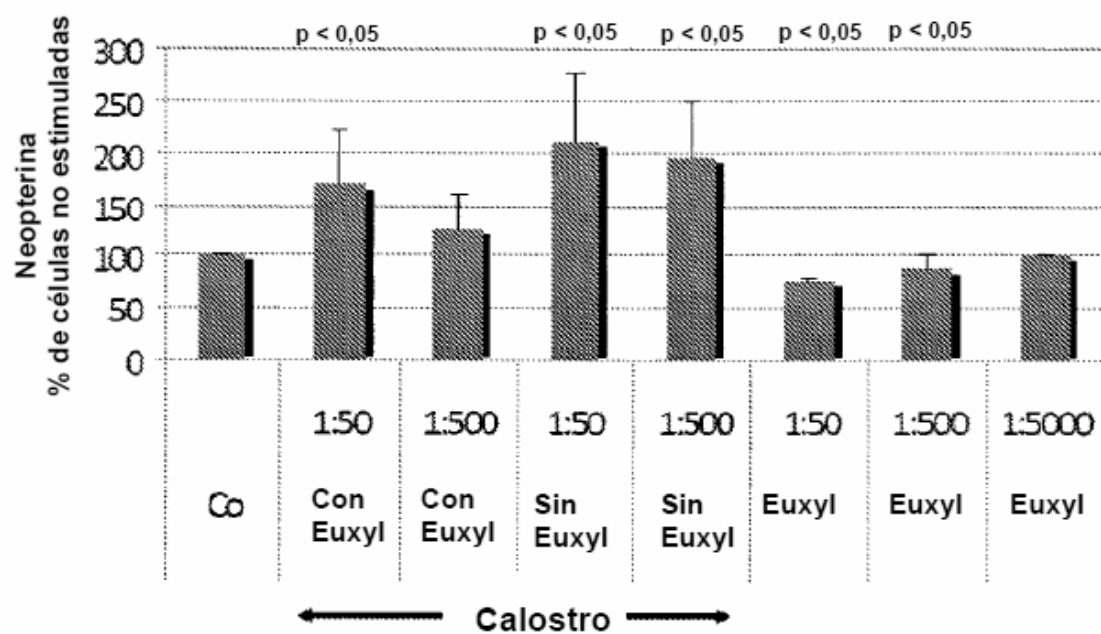


Figura 15

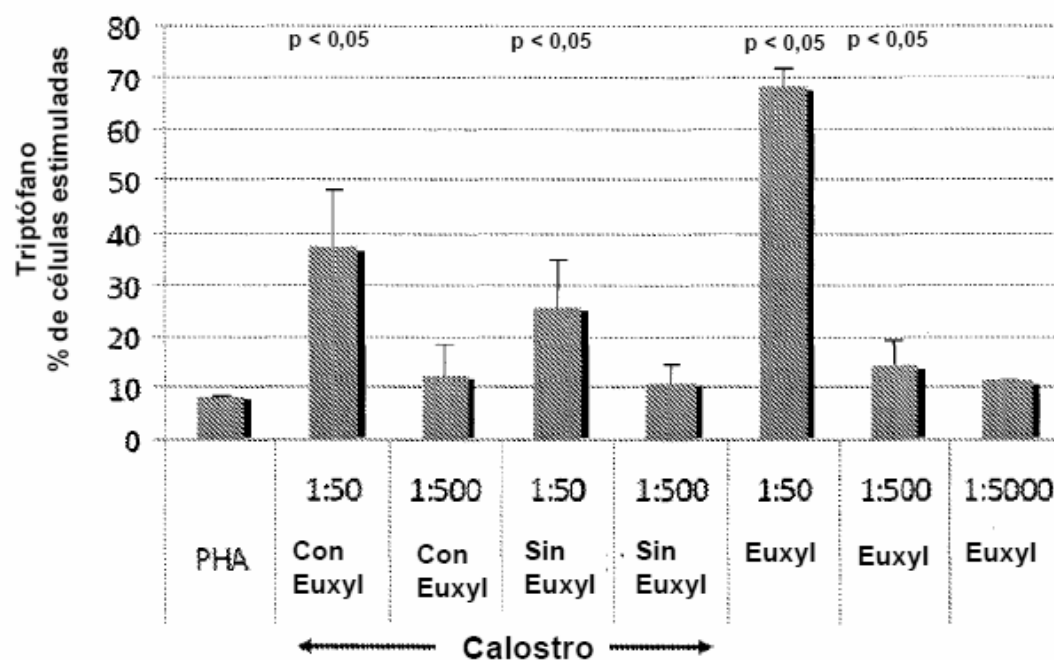


Figura 16

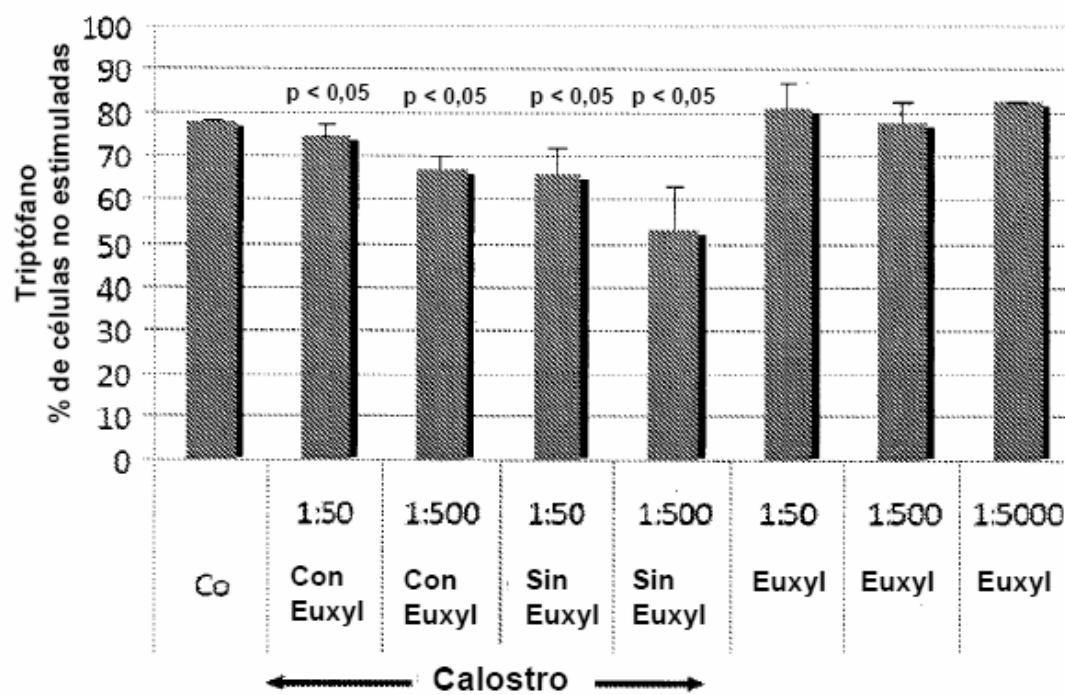


Figura 17

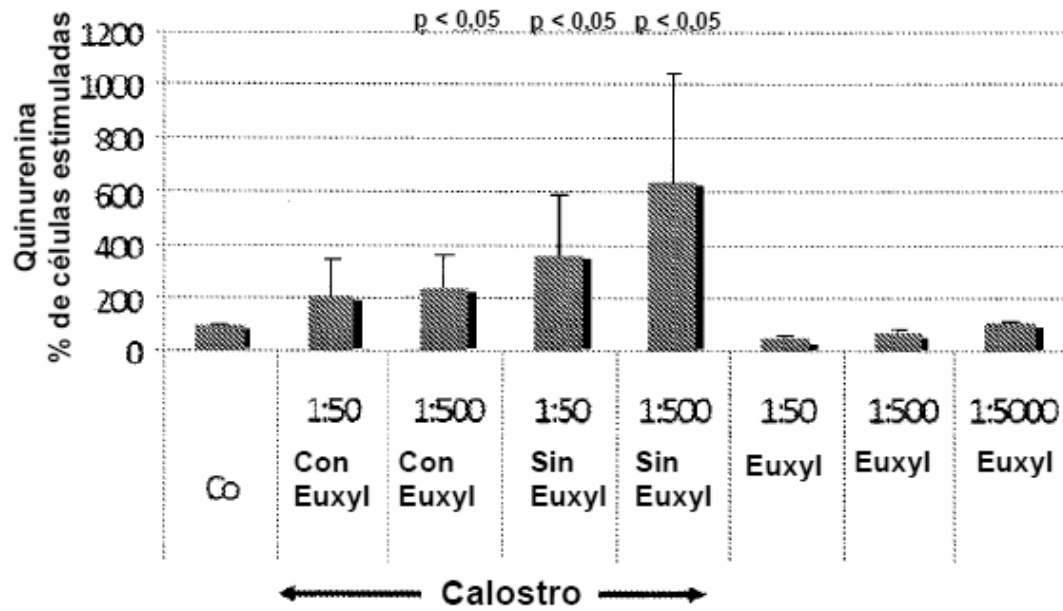


Figura 18

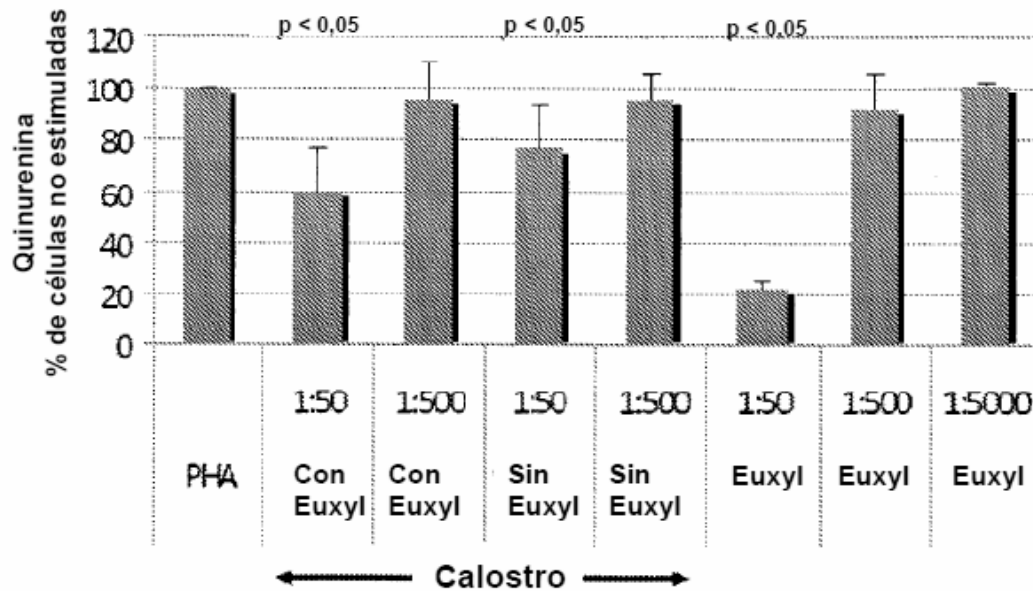


Figura 19

	Sin estimular	PHA [10 µg/ml]
Triptófano [µmol/l]	30,4 ± 1,9	8,2 ± 2,0 **
Quinurenina [µmol/l]	0,9 ± 0,1	9,8 ± 1,3 **
Quin/trp [µmol/l]	28,1 ± 3,6	1312,3 ± 459,2 **
Neopterinina [µmol/l]	3,6 ± 0,4	13,2 ± 3,6 **

Figura 20

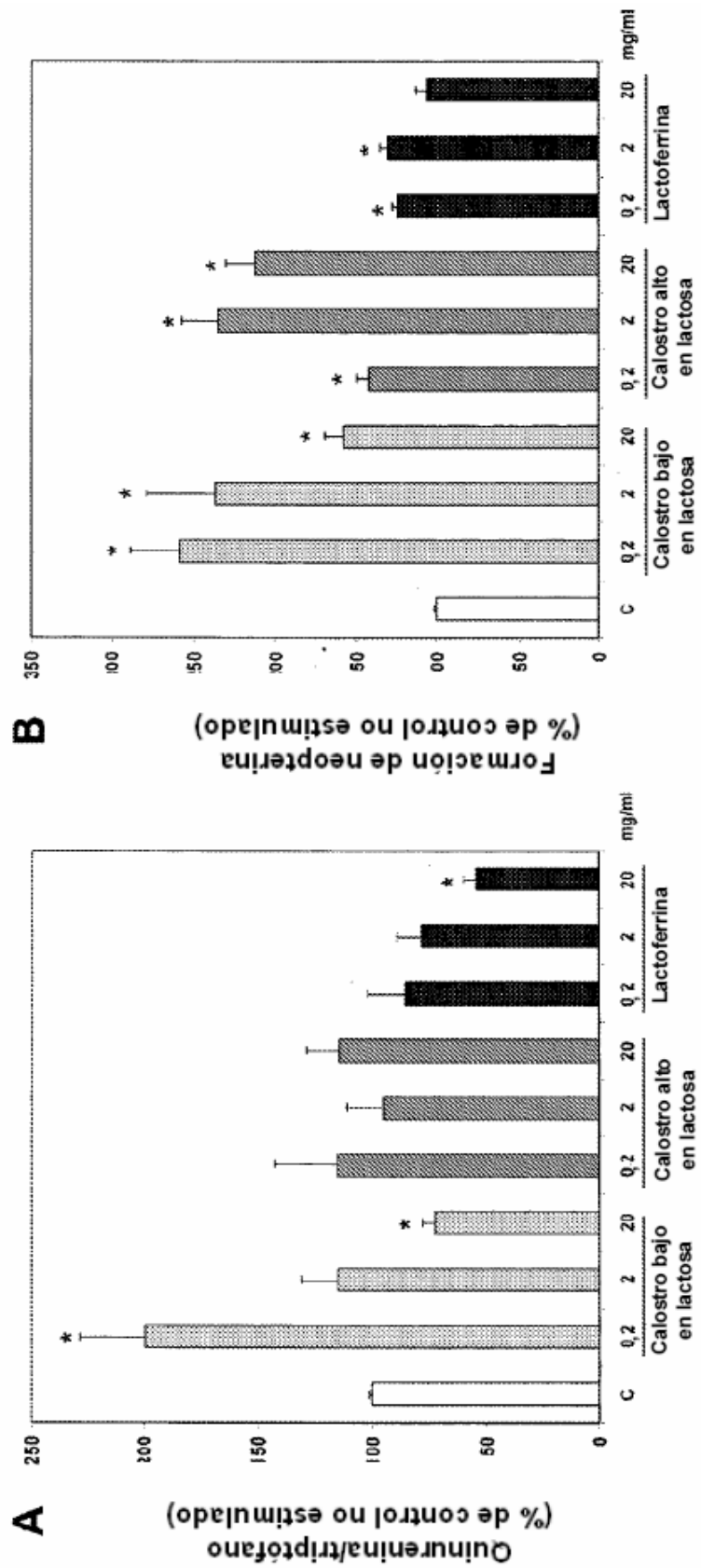


Figura 21

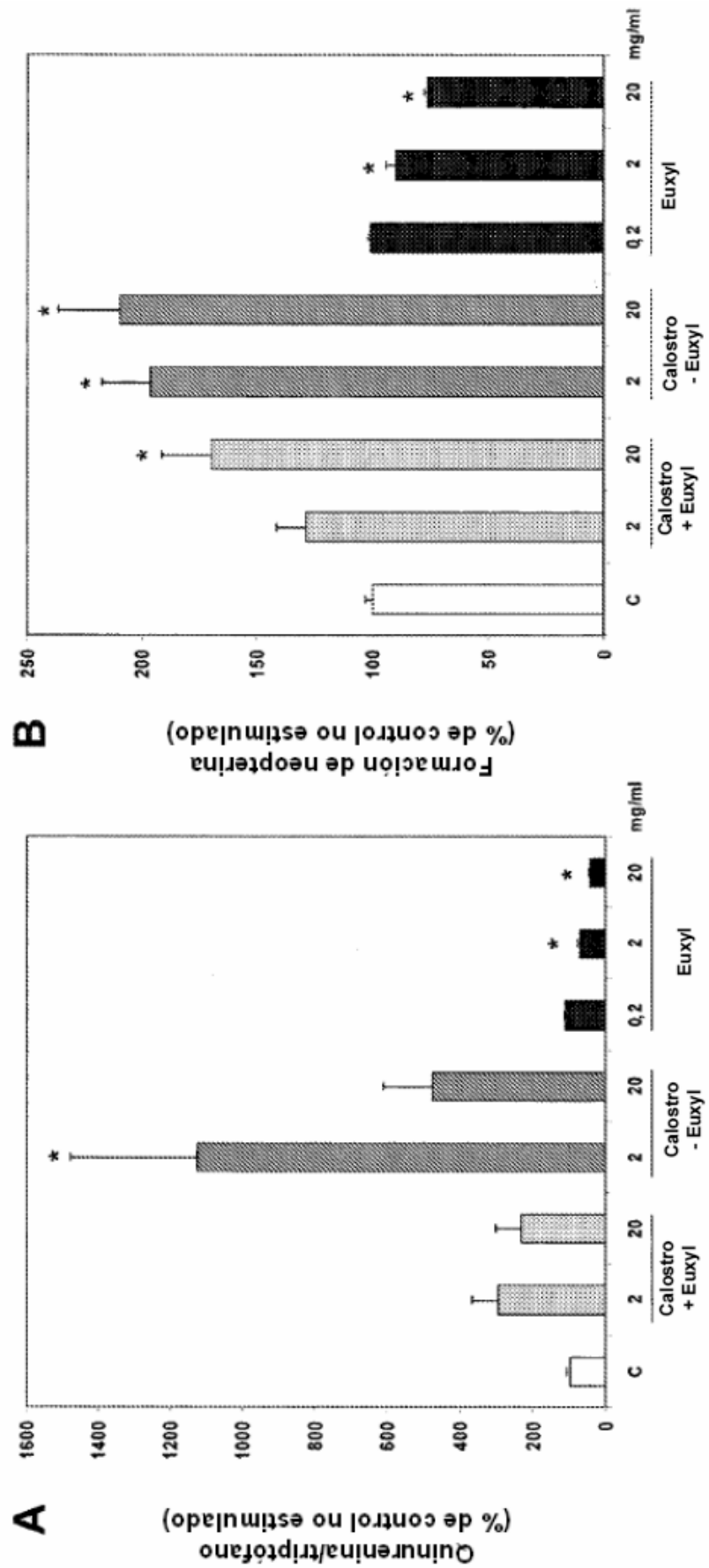


Figura 22

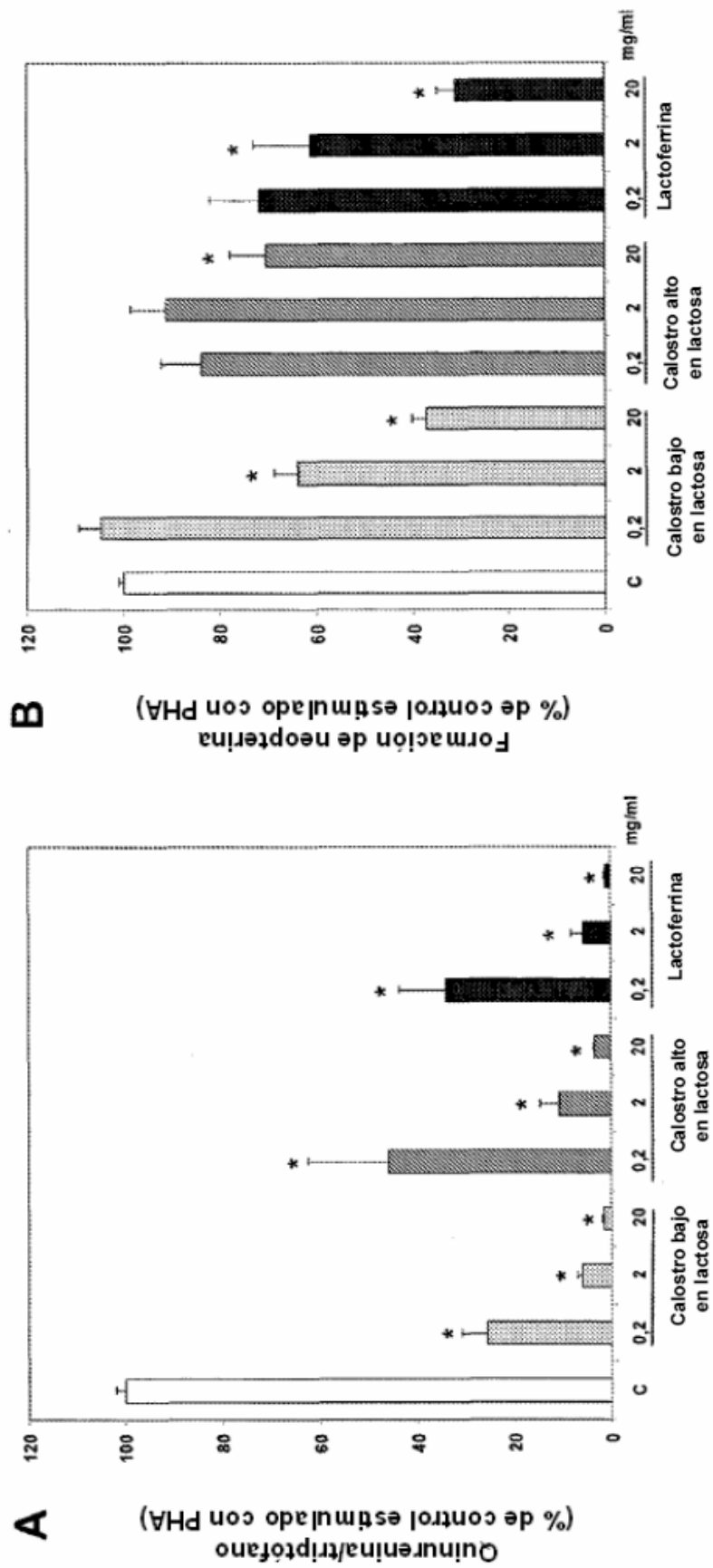


Figura 23

