

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 389**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 9/127** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **02.05.2007 PCT/US2007/068052**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.12.2016 WO2007131047**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.05.2007 E 07761758 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.12.2016 EP 2073819**

54 Título: **Formulaciones tópicas de co-enzima Q10 y tratamiento de dolor, fatiga y heridas**

30 Prioridad:

**02.05.2006 US 797008 P**

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

**28.06.2017**

73 Titular/es:

**University of Miami (100.0%)  
1951 NW 7th Avenue 3rd Floor, Suite 300, Room  
310  
Miami, FL 33136, US**

72 Inventor/es:

**HSIA, SUNG, LAN;  
NARAIN, NIVEN, RAJIN y  
PERSAUD, INDUSHEKHAR**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 620 389 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**

Formulaciones tópicas de co-enzima Q10 y tratamiento de dolor, fatiga y heridas

**Campo de la invención**

5 La invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden co-enzima Q10 (CoQ10) y métodos para usar la CoQ10 en el tratamiento de dolor, fatiga muscular, curación de heridas, artritis y similares.

**Antecedentes**

10 Un área de investigación continua es el desarrollo de métodos más seguros y efectivos para reducir o eliminar el dolor usando formulaciones analgésicas transdérmicas. Aunque muchas de las formulaciones analgésicas disponibles actualmente reducen el dolor en cierta medida, existe, no obstante, un interés continuado por identificar nuevas formulaciones que proporcionen un alivio del dolor más duradero en un periodo corto de tiempo.

E. R. Michael Johnson et al: "ADVANCES IN SKIN & WOUND CARE", Clinical management extra, vol. 16, nº 4, 30 de agosto de 2003 (2003-08-30), páginas 178-189, describe la gestión de heridas de grosor parcial mediante: antibióticos tópicos, nsaid; terapia de heridas de presión negativa; vendajes específicos para heridas, desbridamiento enzimático, factores de crecimiento.

15 Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición tópica segura que acelere la curación de heridas. A partir de las descripciones incluidas en la presente memoria resultarán evidentes otros objetivos de la presente invención.

**Sumario**

20 La invención proporciona una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de entre: 0,001% y 60% (p/p) de CoQ10; liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en un método de aceleración de la curación de una herida profunda de grosor parcial, en donde la composición se administra tópicamente una vez al día en la zona de la herida profunda de grosor parcial.

En una realización preferida, la composición se encuentra en forma de gel, ungüento, crema, pomada, loción, mus, espuma, spray y/o aerosol.

25 En otra realización descrita, un método para tratar el dolor asociado a cáncer comprende administrar tópicamente a un paciente que lo necesite de una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área del dolor. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

30 En otra realización descrita, un método de tratamiento del dolor asociado a dolor muscular comprende administrar tópicamente a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable en el área del dolor. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

35 En otra realización descrita, un método de tratamiento del dolor asociado a dolor articular comprende administrar tópicamente a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable en el área del dolor. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

40 En otra realización descrita, un método de tratamiento de dolor, fatiga y curación de heridas comprende administrar tópicamente a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable en el área del dolor. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10. El dolor puede ser resultado de cualquier afección, tal como por ejemplo una lesión física, cortes, quemaduras, cirugía, articular, muscular, de cabeza, de cuello, cáncer, enfermedad, relacionado con la edad, y otros similares.

45 En otra realización descrita, un método de tratamiento de fatiga muscular comprende administrar tópicamente a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de la composición de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable en el músculo. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

50 En otra realización descrita, un método para aumentar la producción de ATP en los músculos comprende administrar a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de

una composición que comprende coenzima Q10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable a los músculos. Sin embargo, el aumento de la producción de ATP puede darse en cualquier célula.

5 En otra realización descrita, un método para acelerar la curación de heridas comprende administrar a un paciente que lo necesite una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de coenzima Q10, liposomas en un vehículo farmacéuticamente aceptable a los músculos.

En otra realización descrita, una composición para el tratamiento del dolor y de la curación de heridas comprende CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

10 En otra realización preferida, la composición comprende además citocinas, factores de crecimiento, factores de diferenciación, hormonas, analgésicos y calmantes. Los ejemplos de citocinas son factores de crecimiento, factores migratorios, monocinas, linfocinas e incluyen, aunque sin limitación: Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF); Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF); Factores de Crecimiento de Fibroblastos (FGFs); Factores de Crecimiento Transformantes  $\beta$  (TGFs- $\beta$ ); Factor de Crecimiento Transformante  $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ); Eritropoyetina (Epo); Factor de Crecimiento de Tipo Insulina I (IGF-I); Factor de Crecimiento de Tipo Insulina II (IGF-II); Interleucina-1 (IL-1); Interleucina-2 (IL-2); Interleucina-6 (IL-6); Interleucina-8 (IL-8); Factor de Necrosis Tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ); Factor de Necrosis Tumoral  $\beta$  (TNF- $\beta$ ); Interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ); Factores Estimulantes de Colonia (CSFs) y similares.

Otros aspectos de la invención se describen a continuación.

### Descripción breve de las figuras

20 La invención se describe particularmente en las reivindicaciones anexas. Las ventajas anteriores, y otras, de esta invención pueden comprenderse mejor en referencia a la siguiente descripción, considerada en combinación con las figuras acompañantes, en las que:

Figura 1: es un gráfico que muestra el efecto de la coenzima Q10 en la producción de ATP en células musculares lisas aórticas humanas. \*Significativo comparado con el control,  $P < 0,05$ , ANOVA de un sentido y Dunnett.

25 Figura 2: es un gráfico que muestra el efecto de la coenzima Q10 en la proliferación celular en células musculares lisas aórticas humanas. \*Significativo comparado con el control,  $P < 0,05$ , ANOVA de un sentido y Dunnett.

Figura 3: es un gráfico que muestra el efecto de la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10 en la proliferación de células de músculo liso aórticas humanas. \*Significativo comparado con el control,  $P < 0,05$ , ANOVA de un sentido y Dunnett.

Figura 4: es una ilustración esquemática del diseño experimental para el tratamiento en animales.

30 Figura 5: es una ilustración esquemática que muestra el diagrama de evaluación de la migración epidérmica.

Figuras 6A-6E: son gráficos que muestran los efectos de la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10 en la curación de heridas. En el día 5, mostrado en la Figura 6A, ninguna de las heridas de ningún grupo de tratamiento se había re-epitelizado completamente. En el día 6 (Figura 6B), el ochenta por ciento (80%) de las heridas del grupo tratado con CoQ10 A estaban completamente re-epitelizadas, en comparación con el veinte por ciento (20%) para los tratados con CoQ10 B, y ninguna herida en los grupos no tratados. En el día 7 (Figura 6C), el cien por cien (100%) de las heridas tratadas con CoQ A y con CoQ B habían sido re-epitelizadas, en comparación con el cero por ciento de las heridas del grupo no tratado. En el día 8 (Figura 6D) el cien por cien (100%) de las heridas tratadas con CoQ A y con CoQ B habían sido completamente re-epitelizadas en comparación con el cero por ciento de las heridas del grupo no tratado. En el día 9 (Figura 6E), todas las heridas de todos los grupo habían sido completamente re-epitelizadas.

Figura 7: es un gráfico que muestra el efecto de Q10 en la migración de fibroblastos.

Figura 8: es un gráfico que muestra el efecto de Q10 en la migración de queratinocitos.

Figura 9: es un gráfico que muestra el efecto de Q10 en la proliferación de fibroblastos.

Figura 10: es un gráfico que muestra el efecto en la proliferación de queratinocitos.

45 Figura 11: es un gráfico que muestra el efecto de la coenzima Q10 en la producción de ATP en células musculares lisas aórticas humanas. \*Significativo comparado con el control,  $P < 0,05$  (ANOVA de un sentido y método Dunnett).

Figura 12: es un gráfico que muestra la determinación general de los datos obtenidos en el estudio clínico de alivio de dolor tras tratamiento con la composición de CoQ10 o con placebo.

50 Figura 13: es un gráfico que muestra los datos del estudio clínico de alivio de dolor tras tratamiento con la composición de CoQ10 o con placebo.

**Descripción detallada**

5 La invención proporciona una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de entre 0,001% y 60% (p/p) de CoQ10; liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en un método para acelerar la curación de una herida profunda de grosor parcial, en donde la composición se administra tópicamente una vez al día en la zona de la herida profunda de espesor parcial.

La presente solicitud describe métodos para tratar el dolor, la fatiga, la curación de heridas, y para reducir la producción de ATP.

*Definiciones*

10 Se acuerdo a la presente invención y tal como se usan en la presente memoria, los siguientes términos se definen con los siguientes significados, a menos que se establezca explícitamente lo contrario.

Tal como se usa en la presente memoria, “un”, “una”, y “el”, “la” incluyen referencias al plural, a menos que el contexto dicte claramente lo contrario.

15 Tal como se usa en la presente memoria, un componente “farmacéuticamente aceptable” es aquel que es adecuado para uso con humanos y/o animales sin que se den efectos secundarios adversos (tales como toxicidad, irritación y respuesta alérgica) proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

20 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión “cantidad efectiva segura y terapéutica” se refiere a la cantidad de un componente que es suficiente para producir una respuesta terapéutica deseada sin efectos secundarios adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación o respuesta alérgica) proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable cuando se usan de la manera indicada en esta invención. Por “cantidad terapéuticamente efectiva” se pretende indicar una cantidad de un compuesto de la presente invención que es efectiva para producir la respuesta terapéutica deseada. Por ejemplo, una curación de herida acelerada, un alivio de dolor y fatiga. La cantidad efectiva y segura específica o la cantidad terapéuticamente efectiva variarán con factores tales como la afección particular que esté siendo tratada, la condición física del paciente, el tipo de mamífero o de animal que esté siendo tratado, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia concurrente (si hay alguna), y las formulaciones específicas empleadas y la estructura de los compuestos o sus derivados.

25 Tal como se usa en la presente memoria, una “sal farmacéutica” incluye, aunque sin limitación, sales minerales de ácido orgánico de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Preferiblemente, las sales se preparan usando un ácido orgánico o inorgánico. Dichas sales ácidas preferidas son cloruros, bromuros, sulfatos, nitratos, fosfatos, sulfonatos, formiatos, tartratos, maleatos, malatos, citratos, benzoatos, salicilatos, ascorbatos, y similares. La sal más preferida es la sal de hidrocloreuro.

30 “Diagnóstico” o “diagnosticado” significan identificar la presencia o la naturaleza de una afección patológica. Los métodos diagnósticos difieren en su sensibilidad y especificidad. La “sensibilidad” de un ensayo diagnóstico es el porcentaje de individuos enfermos que dan positivo (porcentaje de “positivos verdaderos”). Los individuos enfermos no detectados por el ensayo son “falsos negativos”. Los sujetos que no están enfermos y que dan negativo en el ensayo se denominan “negativos verdaderos”. La “especificidad” de un ensayo diagnóstico es 1 menos la tasa de falsos positivos, en donde la tasa de “falsos positivos” se define como la proporción de aquellos sin enfermedad que dan positivo. Aunque un método diagnóstico concreto puede que no proporcione una diagnosis definitiva de una afección, es suficiente si el método proporciona una indicación positiva que ayude en la diagnosis.

35 Los términos “paciente” o “individuo” se usan de forma intercambiable en la presente memoria, y se refieren a un sujeto mamífero que va a ser tratado, prefiriéndose los pacientes humanos. En algunos casos, los métodos de la invención tienen utilidad con animales experimentales, en aplicaciones veterinarias, y en el desarrollo de modelos animales de enfermedades, que incluyen, aunque sin limitación, roedores que incluyen ratones, ratas y hámsteres; y primates.

40 “Muestra” se usa en la presente memoria en su más amplio sentido. Una muestra que comprende polinucleótidos, polipéptidos, péptidos, anticuerpos y similares puede comprender un fluido corporal; una fracción soluble de una preparación celular, o el medio en que las células fueron cultivadas; un cromosoma, orgánulo o membrana aislado o extraído de una célula; ADN genómico, ARN o ADNc, polipéptidos o péptidos en disolución o ligados a un sustrato; una célula; un tejido; una imprimación tisular; una huella digital, piel o pelo; y similares.

45 “Tratamiento” es una intervención llevada a cabo con la intención de prevenir el desarrollo o de alterar la patología o los síntomas de un trastorno. Por consiguiente, “tratamiento” se refiere tanto a tratamiento terapéutico como profiláctico o de medidas preventivas. Los individuos que necesitan un tratamiento incluyen aquellos que ya tienen el trastorno, así como aquellos en los que se va a prevenir el trastorno. Tal como se usa en la presente memoria, “aliviado” o “tratamiento” se refieren a un síntoma que se aproxima a un valor normalizado (por ejemplo, un valor obtenido en un paciente o un individuo sano), p.ej., se diferencia en menos del 50% de un valor normalizado, preferiblemente se diferencia en menos de aproximadamente un 25% de un valor normalizado, más preferiblemente,

se diferencia en menos de un 10% de un valor normalizado, y de forma aún más preferible, no es significativamente diferente de un valor normalizado, según se determina usando ensayos estadísticos rutinarios.

5 Tal como se usa en la presente memoria, “un síntoma aliviado” o “síntoma tratado” se refiere a un síntoma que se aproxima a un valor normalizado, p.ej., se diferencia en menos del 50% de un valor normalizado, preferiblemente se diferencia en menos de aproximadamente un 25% de un valor normalizado, más preferiblemente, se diferencia en menos de un 10% de un valor normalizado, y de forma aún más preferible, no es significativamente diferente de un valor normalizado, según se determina usando ensayos estadísticos rutinarios.

10 El término “atleta” se refiere a un individuo que participa en deportes a cualquier nivel y que persigue aliviar la fatiga muscular, el dolor muscular, la curación de heridas, y similares. Sin embargo, los atletas que son ciclistas, corredores de larga distancia, corredores de distancias cortas, también se beneficiarán de los efectos de la presente invención. Un atleta puede estar entrenando furo, es decir, llevando a cabo actividades deportivas de forma intensa más de tres días por semana, o para una competición. Un atleta también puede ser un entusiasta del fitness que entrena aproximadamente 1-2 horas aproximadamente 1-3 veces por semana.

15 Los términos “curación de herida” y “curación de herida mejorada” se refieren a la curación de heridas usando las composiciones de la invención. El término abarca no solo la curación de heridas acelerada, es decir, en comparación con 1) un control en el que el paciente no es tratado, y 2) tratamiento con medicamentos de curación de heridas conocidos. El término también abarca otros parámetros relacionados con una calidad y cantidad de curación mejoradas. Esto incluiría, aunque sin limitación, una curación más rápida, una curación más fuerte, menos dolor, menor formación de tejido de cicatriz, un mejor resultado estético y promoción de otros procesos asociados a la curación de heridas.

#### *Sujetos*

25 Se pueden tratar sujetos de especies muy diferentes con las composiciones de la invención. Una lista de ejemplos no exhaustiva de dichos animales incluye mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, cabras, ovejas, cerdos, caballos, ganado bovino, perros, gatos y primates tales como monos, simios y seres humanos. Para uso en la invención se prefieren los sujetos animales que se sabe que padecen fatiga muscular, dolor, heridas. En particular, los pacientes humanos que padecen lesiones, cirugía, artritis, fatiga muscular, y otros similares, son sujetos animales adecuados para uso en la invención. Adaptando los métodos mostrados en la presente memoria a otros métodos conocidos en la ciencia médica o veterinaria (p.ej., ajustando las dosis de sustancias administradas según el peso del sujeto animal), se puede optimizar fácilmente las composiciones utilizadas en la invención para uso en otros animales.

#### *Composiciones farmacéuticas y administración a un sujeto*

Las preparaciones transdérmicas, orales e intravenosas de 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona (coenzima Q-10) comprenden, entre otros, agentes auxiliares, una cantidad efectiva de tensioactivo pulmonar y/o en combinación con liposomas.

35 En una realización preferida, la invención proporciona composiciones de CoQ10 para el dolor, la fatiga y la curación de heridas (todos descritos).

40 Un ejemplo de formulación liposómica está compuesto por Phospholipon 90G (American Lechitin, Stanford, CT), Phospholipon 90H (American Lechitin, Stanford, CT), glicerol, hidroxitolueno butilado (BHT), etanol, triglicéridos de cadena media (MCT), lavanda (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y Coenzima Q10 (Pure Prescriptions, San Diego, CA). Un ejemplo de protocolo para preparar dicha formulación contempla en primer lugar la disolución de 10 g de Phospholipon 90H, 5 g de Phospholipon 90G, con 1,5 g de MCT, 0,3 g de BHT y 9 mL de etanol a 75°C. A continuación se disuelven 1,1 g de Coenzima Q10 en la mezcla. Se añaden 65 mL de tampón de fosfato 1 mM (pH 8,2) preparado con agua saturada en nitrógeno, 13,3 g de glicerol y 50 µL de lavanda. La mezcla anterior se agita en un mezclador de alta velocidad a 12.000 RPM para formar una crema. La crema se almacena a 4°C hasta su uso.

45 Las composiciones de CoQ10 comprenden CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéutica aceptable. La composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10. Por ejemplo, Q-soothe comprende un 1% p/p de coenzima Q10.

50 En otra realización preferida, la composición comprende además citocinas, factores de crecimiento, factores de diferenciación, hormonas, analgésicos y/o calmantes. Los ejemplos de citocinas son factores de crecimiento, factores migratorios, monocinas y linfocinas.

55 Los ejemplos de factores de crecimiento adecuados son el factor de crecimiento de fibroblasto básico (bFGF), el factor de crecimiento endotelial (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), los factores de crecimiento transformantes (TGF $\alpha$  y TGF $\beta$ ), los factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGFs), el factor de crecimiento de hepatocito (HGF), el factor de crecimiento de tipo insulina (IGF), insulina, eritropoyetina (EPO) y factor estimulante de colonia (CSF). Los ejemplos de aditivos de medio hormonales son estrógeno, progesterona,

testosterona o glucocorticoides tales como la dexametasona. Los ejemplos de citocinas son interferones, interleucinas o factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ).

Algunos ejemplos de interleucinas incluyen IL-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8, -9, -10, -11, -12, -13, -14, -15, -16, -17, -18, -19, -20 y -21.

- 5 Los ejemplos de analgésicos o anti-inflamatorios para aliviar el dolor incluyen, por ejemplo, NSAIDs e inhibidores de Cox-2. Cuando se usa de esta manera, por ejemplo, la composición de la presente memoria puede proporcionar un efecto de alivio del dolor potenciado y/o aditivo.

10 Otros analgésicos que pueden incluirse en la composición son, por ejemplo, los agentes de tipo morfina, tales como codeína, opiáceos, oxi-contina, Percocet, Demorol y Vicadina. Cuando se usan de esta manera, por ejemplo, los agentes de tipo morfina, junto con cualquiera de las formulaciones de la presente invención, pueden lograr un efecto analgésico que de otro modo requeriría una mayor dosis de opioides pero con menores efectos secundarios.

15 Las composiciones que comprenden CoQ10 se administran tópicamente. Es preferible presentar el ingrediente activo, es decir, CoQ10, como una formulación farmacéutica. La coenzima Q10 se encuentra disponible comercialmente. Los ejemplos de composiciones se describen en detalle en los ejemplos que se presentan a continuación. El ingrediente activo comprende, para administración tópica, entre 0,001% y 60% p/p, en peso de la formulación en el producto final. Las formulaciones tópicas de la presente invención, comprenden un ingrediente activo junto con uno o más vehículos aceptables para el mismo, y opcionalmente cualquier otro(s) agente(s) terapéutico(s). El(los) vehículo(s) debe(n) ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la formulación, y no ser perjudicial para el receptor del mismo.

20 La composición de la invención se puede administrar a un paciente como tal, o en composiciones farmacéuticas en las que está mezclada con vehículos o excipiente(s) adecuados. Para tratar a un paciente que exhibe un trastorno de interés, se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente o agentes tales como éstos. Una dosis terapéuticamente efectiva se refiere a la cantidad del compuesto que da como resultado un alivio de los síntomas o una prolongación de la supervivencia en un paciente.

25 La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos pueden determinarse mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, p.ej., para determinar la LD<sub>50</sub> (dosis letal para el 50% de la población) y la ED<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>. Se prefieren los compuestos que exhiben índices terapéuticos altos. Los datos obtenidos a partir de dichos ensayos de cultivo celular y estudios con animales pueden usarse a la hora de formular un rango de dosis para uso en humanos. La dosis de dichos compuestos entra preferiblemente en un rango de concentraciones en circulación que incluyen la ED<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de dicho rango dependiendo de la forma de dosis empleada y de la ruta de administración utilizada.

35 Para cualquier compuesto usado en el método de la invención, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Por ejemplo, se puede formular una dosis en modelos de animales para alcanzar un rango de concentración en plasma en circulación que incluye la IC<sub>50</sub> determinada en el cultivo celular. Dicha información puede usarse para determinar de forma más precisa las dosis útiles en humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante HPLC.

40 La formulación, ruta de administración y dosis exactas pueden ser seleccionadas por el médico correspondiente en vista de la condición del paciente. (Véase, p.ej., Fingl et al., en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", 1975, Capítulo 1, página 1). Cabe destacar que el médico responsable sabría cómo y cuándo terminar, interrumpir o ajustar la administración debido a toxicidad o a disfunciones en órganos. Inversamente, el médico responsable también sabría ajustar el tratamiento a niveles más altos si la respuesta clínica no fuera adecuada (evitando toxicidad). La magnitud de una dosis administrada en el manejo del trastorno oncogénico de interés variará con la gravedad de la afección tratada y con la ruta de administración. La gravedad de la afección, por ejemplo, puede ser evaluada, en parte, mediante métodos de evaluación pronóstica estándares. Además, la dosis y quizás la frecuencia de dosis también variarán en función de la edad, el peso corporal y la respuesta del paciente individual. Se puede usar un programa comparable al discutido anteriormente en medicina veterinaria.

50 Las composiciones de la invención pueden aplicarse a un paciente mediante modalidades de tratamiento que se ajustan al paciente, tal como el tipo de lesión, la gravedad de la lesión, la localización de la lesión. Por ejemplo, se puede modular el porcentaje de la composición activa durante el curso del tratamiento nuevamente dependiendo de la gravedad, el tipo de lesión, etc.

Las técnicas de formulación y administración se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 18ª edición, Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990).

55 Las composiciones descritas antes pueden administrarse a un sujeto en cualquier formulación adecuada. Realizaciones descritas: además del tratamiento de cáncer con formulaciones tópicas de CoQ10, en otros aspectos de la invención la CoQ10 podría administrarse mediante otros métodos. Por ejemplo, la CoQ10 podría formularse

para administración parenteral, p.ej., para inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intratumoral. Se podrían usar otros métodos de administración, por ejemplo, administración liposómica o difusión desde un dispositivo impregnado con la composición. Las composiciones pueden administrarse en un bolo individual, en inyecciones múltiples o mediante infusión continua (por ejemplo, intravenosamente o mediante diálisis peritoneal).

5 Para la administración parenteral, las composiciones preferiblemente se formulan en una forma esterilizada libre de pirógenos. Las composiciones de la invención también pueden administrarse *in vitro* a una célula (por ejemplo, para la producción de ATP en una célula o en un cultivo *in vitro*) simplemente añadiendo la composición al fluido en el que está contenida la célula.

Realizaciones descritas: dependiendo de las afecciones específicas a tratar, dichos agentes pueden formularse y administrarse sistémica o localmente. Las técnicas para formulación y administración se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", 18ª edición, Mack Publishing Co., Easton, Pa (1990). Las rutas adecuadas pueden incluir administración oral, rectal, transdérmica, vaginal, transmucosal o intestinal; administración parenteral, que incluye inyecciones intramusculares, subcutáneas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventriculares directas, intravenosas, intraperitoneales, intranasales o intraoculares, por nombrar unas pocas.

15 Realizaciones descritas: para inyección, los agentes de la invención pueden formularse en disoluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como disolución de Hanks, disolución de Ringer o tampón salino fisiológico. Para la administración transmucosal en la formulación se usan penetradores apropiados para la barrera que debe ser permeada. Dichos penetradores son conocidos de forma general en la técnica.

Realizaciones descritas: el uso de vehículos farmacéuticamente aceptables para formular los compuestos descritos en la presente memoria para la práctica de la invención en dosis adecuadas para administración sistémica se encuentra dentro del alcance de la invención. Mediante una selección apropiada del vehículo y una adecuada práctica de fabricación, las composiciones de la presente invención, en particular las formuladas como disoluciones, pueden ser administradas parenteralmente, tal como mediante inyección intravenosa. Los compuestos se pueden formular fácilmente usando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica en dosis adecuadas para administración oral. Dichos vehículos permiten que los compuestos de la invención sean formulados como comprimidos, píldoras, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, suspensiones y similares, para ingestión oral por parte de un paciente que vaya a ser tratado.

Realizaciones descritas: los agentes que se pretende administrar intracelularmente pueden administrarse mediante técnicas bien conocidas por los especialistas en la técnica. Por ejemplo, dichos agentes pueden encapsularse en liposomas y después administrarse como se ha descrito antes. Los liposomas son bicapas lipídicas esféricas con interiores acuosos. Todas las moléculas presentes en una disolución acuosa en el momento de la formación del liposoma son incorporadas al interior acuoso. El contenido de los liposomas está protegido del entorno exterior y, puesto que los liposomas se fusionan con las membranas celulares, es administrado de forma eficiente dentro del citoplasma celular. Adicionalmente, debido a su hidrofobicidad, las moléculas orgánicas pequeñas pueden administrarse de forma directa intracelularmente.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad efectiva para lograr su propósito pretendido. La determinación de las cantidades efectivas se haya dentro de las capacidades de los especialistas en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada en la presente memoria. Además de los ingredientes activos, dichas composiciones farmacéuticas contienen vehículos aceptables farmacéuticamente adecuados que comprenden excipientes y aditivos auxiliares que facilitan el procesado de los compuestos activos en preparaciones que pueden ser usadas farmacéuticamente. Las preparaciones formuladas para administración oral pueden adoptar la forma de comprimidos, pastillas, cápsulas o disoluciones. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden fabricarse de un modo que sea conocido por sí mismo, p.ej., mediante procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, preparación de pastillas, levitación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

Las formulaciones adecuadas para administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas adecuadas para penetrar a través de la piel en el sitio en el que se requiera el tratamiento, tal como linimentos, lociones, cremas, pomadas o pastas, y gotas adecuadas para administración a los ojos, oídos o nariz. Las gotas según la presente invención pueden comprender disoluciones o suspensiones acuosas o aceitosas estériles, y pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en una disolución acuosa adecuada de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro conservante adecuado, y preferiblemente incluyendo un agente tensioactivo. La disolución resultante puede clarificarse entonces y esterilizarse mediante filtración, y ser transferida al recipiente mediante una técnica aséptica. Los ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para su inclusión en las gotas son nitrato o acetato de fenilmercurio (0,002%), cloruro de benzalconio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para la preparación de una disolución oleaginosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.

Las lociones según la presente invención incluyen las adecuadas para aplicación a la piel o al ojo. Una loción ocular puede comprender una disolución acuosa estéril que contiene opcionalmente un bactericida y puede prepararse mediante métodos similares a los de la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para aplicación a 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 o aceite de cacahuete.

Las cremas, pomadas o pastas según la presente invención son formulaciones semi-sólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Pueden prepararse mezclando el ingrediente activo en forma dividida finamente o en polvo, solo o en disolución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de una maquinaria adecuada, con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos tales como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abejas, 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 esteárico u oleico junto con un alcohol tal como propilenglicol o macrogeles. La formulación puede incorporar cualquier agente tensioactivo tal como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico, tal como ésteres de sorbitan o los derivados de polioxietileno de los mismos. También se pueden incluir agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silicosas, y otros ingredientes tales como lanolina.

Realizaciones descritas: las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen disoluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones aceitosas de inyección apropiadas. Los disolventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos tales como el aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones de inyección acuosa pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetil celulosa sódica, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de disoluciones altamente concentradas.

Realizaciones descritas: las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener combinando los compuestos activos con excipientes sólidos, opcionalmente moliendo una mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, tras añadir los agentes auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de pastillas. Los excipientes adecuados son, en particular, rellenos tales como azúcares, que incluyen lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetil-celulosa, carboximetilcelulosa sódica, y/o polivinil pirrolidona (PVP). Si se desea se pueden añadir agentes desintegrantes, tales como polivinil pirrolidona reticulada, agar o ácido alginico, o una sal de los mismos tal como alginato sódico.

Realizaciones descritas: los núcleos de pastillas se proporcionan con un recubrimiento adecuado. Para este fin, se pueden usar disoluciones de azúcar concentradas, que opcionalmente pueden contener goma arábica, talco, polivinil pirrolidona, gel carbopol, polietilén glicol, y/o dióxido de titanio, disoluciones de laca y disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de pastillas para identificación, o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuesto activo.

Realizaciones descritas: las preparaciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente incluyen cápsulas de cierre a presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas blandas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de cierre a presión pueden contener los ingredientes activos mezclados con un relleno tal como lactosa, aglomerantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados, tales como ácidos grasos, parafina líquida o polietilén glicoles líquidos. Adicionalmente, se pueden añadir estabilizantes.

La composición puede incluir un sistema tampón, si se desea. Los sistemas de tampón se eligen para mantener o tamponar el pH de las composiciones en un rango deseado. El término "sistema tampón" o "tampón" tal como se usa en la presente memoria se refiere a un agente o agentes solutos que, cuando se encuentra en disolución acuosa estabilizan dicha disolución frente a un cambio importante del pH (o de la concentración o actividad de los iones de hidrógeno) cuando se añaden a la misma ácidos o bases. El agente o agentes solutos responsables de la resistencia al cambio de pH fuera de un valor de pH tamponado inicial en el rango indicado anteriormente son bien conocidos. Aunque existen innumerables tampones adecuados, el fosfato potásico monohidratado es un tampón preferido.

El valor de pH final de la composición farmacéutica puede variar en el rango fisiológico compatible. Necesariamente, el valor de pH final es uno que no es irritante para la piel humana y preferiblemente es tal que se facilita el transporte transdérmico del compuesto activo, es decir de CoQ10. Sin saltarse esta restricción, el pH puede seleccionarse para mejorar la estabilidad del compuesto de CoQ10 y para ajustar la consistencia cuando sea requerido. En una realización, el valor de pH preferido es de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 7,4, más preferiblemente de aproximadamente 3,0 a aproximadamente 6,5, lo más preferiblemente de aproximadamente 3,5 a aproximadamente 6,0.

Para los vehículos de administración tópica preferidos el componente restante de la composición es agua, que necesariamente está purificada, p.ej., agua desionizada. Dichas composiciones de vehículo de administración contienen agua en el rango de más de aproximadamente 50 a aproximadamente 95 por ciento, en base al peso total de la composición. La cantidad específica de agua presente no es crítica, sin embargo, siendo ajustable para



obtener la viscosidad deseada (habitualmente de aproximadamente 50 cps, 0,05 Pa·s, a aproximadamente 10.000 cps, 10 Pa·s) y/o la concentración de los demás componentes. El vehículo de administración tópica preferiblemente tiene una viscosidad de al menos aproximadamente 30 centipoises (0,03 Pa·s).

5 También se pueden usar otros potenciadores de penetración cutánea transdérmicos conocidos para facilitar la administración de CoQ10. Como ejemplo ilustrativo están los sulfóxidos tales como el dimetilsulfóxido (DMSO) y similares; las amidas cíclicas tales como 1-dodecilazacicloheptan-2-ona (Azone™, una marca registrada de Nelson Research, Inc.) y similares; las amidas tales como N,N-dimetil acetamida (DMA), N,N-dietil toluamida, N,N-dimetil formamida, N,N-dimetil octamida, N,N-dimetil decamida, y similares; derivados de pirrolidona tales como N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona, ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico, N-(2-hidroxietil)-2-pirrolidona o los ésteres de ácido graso de la misma, 1-lauril-4-metoxicarbonil-2-pirrolidona, N-seboalquilpirrolidonas, y similares; polioles tales como propilen glicol, etilen glicol, polietilen glicol, dipropilen glicol, glicerol, hexanotriol, y similares; ácidos grasos lineales y ramificados tales como oleico, linoleico, láurico, valérico, heptanoico, caproico, mirístico, isovalérico, neopentanoico, trimetil hexanoico, isoesteárico, y similares; alcoholes tales como etanol, propanol, butanol, octanol, de oleilo, de estearilo, de linoleilo, y similares; tensioactivos aniónicos tales como laurato sódico, lauril sulfato sódico, y similares; tensioactivos catiónicos tales como cloruro de benzalconio, cloruro de dodeciltrimetilamonio, bromuro de cetiltrimetilamonio, y similares; tensioactivos no iónicos tales como polioxietileno éteres propoxilados, p.ej., Poloxamer 231, Poloxamer 182, Poloxamer 184, y similares, los ácidos grasos etoxilados, p.ej., Tween 20, Myrj 45, y similares, los derivados de sorbitan, p.ej., Tween 40, Tween 60, Tween 80, Span 60, y similares, los alcoholes etoxilados, p.ej., polioxietileno (4) lauril éter (Brij 30), polioxietileno (2) oleil éter (Brij 93), y similares, lecitina y derivados de lecitina, y similares; los terpenos tales como D-limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -careno,  $\alpha$ -terpinol, carbol, carvona, mentona, óxido de limoneno, óxido de  $\alpha$ -pineno, aceite de eucalipto, y similares.

También son adecuados como potenciadores de la penetración cutánea los ácidos y ésteres orgánicos tales como ácido salicílico, metil salicilato, ácido cítrico, ácido succínico, y similares.

#### *Cantidades efectivas*

25 Las composiciones descritas antes se administran preferiblemente a un sujeto en una cantidad efectiva. Una cantidad efectiva es aquella cantidad que es capaz de producir un resultado deseable en un animal o célula tratados. Como es bien conocido en la práctica médica y veterinaria, la dosis para un animal cualquiera depende de muchos factores, que incluyen el tamaño particular del animal, el área de superficie corporal, la edad, la composición particular a administrar, el momento y la ruta de administración, la salud general, y otros fármacos que estén siendo administrados concurrentemente. Es de esperar que una dosis apropiada para la administración tópica de las composiciones de la invención esté en el rango de aproximadamente 0,1 – 2,50 mg de CoQ10/kg de peso corporal (p.ej., 10 – 500 mg para sujetos que pesen entre 50 kg y 136 kg (110 a 300lbs)). Una cantidad efectiva para uso con una célula en cultivo también variará, pero puede determinarse fácilmente de forma empírica (por ejemplo, añadiendo concentraciones variables a la célula y seleccionando la concentración que mejor alcanza el resultado deseado). Es de esperar que una concentración apropiada esté en el rango de aproximadamente 1 – 250  $\mu$ M.

#### *Afecciones/trastornos*

En una realización descrita, las composiciones de la invención, es decir, que comprende Coenzima Q10 como ingrediente activo, se usan para tratar fatiga muscular y musculo esquelética, para acelerar la curación de heridas, para proporcionar una mejor curación de herida, para tratar dolores tales como el dolor articular, la fatiga general, y similares. Sin pretender establecer ninguna teoría, se cree que las composiciones aumentan el nivel de ATP en una célula.

El ATP es una molécula de nucleótido que tiene tres moléculas de fosfato unidas a un grupo 5-hidroxilo en una ribosa de adenosina, que tiene el nombre formal de adenosina 5'-trifosfato. El ATP es un compuesto presente ampliamente en cualquier tejido u organismo vivo, incluyendo los músculos de animales o las células de levadura.

45 El ATP tiene dos enlaces de fosfato de alta energía por molécula, dando lugar por ello a una energía libre de aproximadamente 7,3 kcal/mol cuando se hidroliza cerca de pH neutro y convirtiéndose en adenosina difosfato. De esta manera, la energía producida en la hidrólisis de ATP permite la síntesis de ácido nucleico, así como diversos metabolismos que incluyen el metabolismo de proteínas, el metabolismo de carbohidratos y/o el metabolismo de lípidos. Un compuesto que tiene un enlace de éster de fosfato proporcionado por ATP entrará en un “estado activado” para contribuir a varias reacciones de síntesis.

El ATP es la molécula de producción de energía esencial para cada célula del cuerpo. También se encuentran compuestos ricos en fosfato similares en cada organismo con compuestos relacionados con ATP que suministran toda la energía celular. En 1982, Chaudry y la “Yale Medical School” publicaron resultados que mostraban que el ATP estaba presente en fluidos intracelulares e intersticiales, sugiriendo de este modo que la enorme importancia biológica del ATP.

El ATP y su producto de degradación adenosina también están implicados inherentemente en una serie de procesos extracelulares como el de la contracción muscular, como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, algunos de estos procesos extracelulares incluyen la neurotransmisión, la función cardíaca, la función plaquetaria, la

vasodilatación y el metabolismo hepático de glucógeno. Como puede apreciarse, estas funciones biológicas adicionales han dado lugar a diversas aplicaciones clínicas del ATP y la adenosina. Por ejemplo, las aplicaciones clínicas pueden incluir aplicaciones de ATP y adenosina como anestésico neuropático e isquémico, un agente hipotensivo para trauma o hipertensión inducida por trauma, tal como la hipertensión pulmonar, una hipoglucemia moderada en la diabetes de tipo II y al menos evidencias preliminares de que el ATP puede ser útil como terapia de ayuda en el tratamiento de cáncer con radiación.

El ATP y compuesto relacionados han sido investigados de manera intensiva para posibles usos de fármacos (véase Daly, *J. Med. Chem.*, 25: 197, (1982)). Las más extendidas de estas aplicaciones son en diversos tratamientos cardíacos que incluyen la prevención de lesión por reperfusión tras isquemia cardíaca o apoplejía, y el tratamiento de la hipertensión (véase Jacobson, et al., *J. Med. Chem.*, 35, 407-422 (1992)), así como el tratamiento de taquicardia supra ventricular paroxismal (véase Pantely, et al., *Circulation*, 82, 1854 (1990)).

Específicamente con respecto al resultado en humanos, la división de ATP para formar adenosina difosfato (ADP) tiene una importancia crítica en el funcionamiento de los músculos, ya que es la reacción que suministra directamente energía a la miosina y la actina para facilitar la contracción muscular normal. En muchos casos, este requisito se cumple mediante la reconstitución real del ATP según se usa, más que almacenando una cantidad grande de ATP en el músculo. Sin embargo, en condiciones excepcionalmente demandantes tales como una actuación atlética intensa o determinados estados de deficiencia por una nutrición inadecuada o por efecto de diversas enfermedades, la disponibilidad de ATP podría ser una etapa limitante en el resultado de actuación muscular óptimo.

La importancia de las composiciones de la presente invención se puede observar a través de las amplias aplicaciones de dichas composiciones:

*Curación de heridas:* Según el método de la invención, la(s) composición(es) descrita(s) en la presente memoria se aplica a tejido con heridas en cantidad suficiente para aumentar la velocidad de curación del tejido. Estos compuestos pueden acelerar de forma significativa la velocidad de curación a niveles nanomoleculares *in vivo*. Para cualquier agente activo dado, la concentración óptima para una formulación dada puede determinarse fácilmente de forma empírica usando una experimentación rutinaria. En general, una cantidad de agente activo adecuada para su uso según la presente invención oscila entre aproximadamente 0,001 µg y aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal.

Las composiciones de la invención pueden comprender un hidrogel. Como apreciarán los especialistas en la técnica, los hidrogeles son entramados macromoleculares que absorben agua y se hinchan de esta forma, pero sin disolverse en agua. Es decir, los hidrogeles contienen grupos funcionales hidrofílicos que proporcionan la absorción de agua, pero los hidrogeles comprenden polímeros reticulados que dan lugar a insolubilidad acuosa. Generalmente, entonces, los hidrogeles comprenden polímeros hidrofílicos reticulados tales como poliuretano, un alcohol de polivinilo, un ácido poliacrílico, un polioxietileno, una polivinilpirrolidona, un poli(hidroxietil metacrilato) (poli(HEMA)), o un copolímero o una mezcla de los mismos.

Si la composición se va a aplicar como un líquido, se puede emplear cualquier tipo de medio de aplicación que permita el influjo de los agentes activos en el tejido a lo largo de un periodo de tiempo. Por ejemplo, se podría aplicar una disolución acuosa al tejido de la herida a través de una venda o tira, o se podría formular una disolución de tal modo que se pudiera obtener una perfusión programada (usando, p.ej., liposomas, pomadas, micelas, etc.). Los métodos de producción de dichas formulaciones con los compuestos de la presente invención son evidentes para los especialistas en la técnica. Si las composiciones deben administrarse en forma líquida, preferiblemente se emplea una disolución matricial o micelar con el agente activo presente en un rango de concentraciones de entre 1 ng/mL y 5.000 µg/mL, entre 10 y 500 µg/mL o entre 30 y 500 µg/mL. Un rango de concentración preferido que es conveniente será de al menos 30 µg/mL. Una disolución matricial particular es un polímero semi-sólido de polietilén glicol de la marca comercial HYDRON de Hydro Med Sciences, New Brunswick, N.J. Otra disolución preferida es una disolución micelar vendida con el nombre comercial de PLURONICS F108 de BASF, Ludwigshafen, Alemania. En condiciones de temperatura ambiente, esta disolución es líquida, pero cuando se aplica a un tejido cálido la disolución forma un gel que permite la infusión de agente activo en el tejido de la herida a lo largo de un periodo de varios días. Otras formulaciones preferidas incluyen preparaciones de carboximetil celulosa, preparaciones cristaloides (p.ej., salino, disolución de lactato de Ringer, salino tamponado con fosfato, etc.), viscoelásticos, polietilén glicoles, polipropilén glicoles y coberturas para heridas (p.ej., vendajes, etc.).

Los efectos de curación de los compuestos de la presente invención pueden proporcionarse en una variedad de ejemplos. La loción, crema, pomada, etc. puede aplicarse tópicamente a la superficie del tejido herido en el tratamiento de úlceras, lesiones, heridas, úlceras diabéticas, quemaduras, traumas, úlceras de estasis, afecciones periodontales, laceraciones y otras afecciones. Adicionalmente, se puede tratar un tejido intraperitoneal herido como el resultante de una cirugía invasiva con una composición según la presente invención para acelerar la curación. Por ejemplo, después de la eliminación quirúrgica de una sección de colon o de otro tejido, el plano quirúrgico se puede recubrir con una disolución de agente activo antes de cerrar la zona quirúrgica a fin de acelerar la perfusión capilar interna y la curación. Además, la velocidad de curación localizada puede aumentarse mediante una administración subdérmica de agente activo por inyección o de otro modo.

*Dolor muscular, dolor y dolor articular (realización descrita)*

A menudo las dolencias musculares y el dolor articular se producen simultáneamente como resultado del ejercicio físico o de la edad avanzada. Además, el dolor articular también puede producirse como resultado de la artritis o de otras enfermedades articulares degenerativas, que también puede producir indirectamente dolencias musculares.

5 Las dolencias musculares y articulares se producen en la mayoría de los mamíferos y, en particular, se producen en humanos, caballos, perros y gatos. La dolencia genera muchos problemas, tales como hacer las acciones normales del mamífero difíciles y dolorosas. Dichas acciones incluyen caminar, agacharse, correr, arrastrarse, etc. Para aliviar este malestar, es necesario tomar múltiples analgésicos, p.ej., un analgésico para atajar las dolencias musculares y otro analgésico para atajar las dolencias articulares. Los analgésicos múltiples, p.ej., píldoras o comprimidos,

10 pueden ser difíciles de administrar a los mismos mamíferos, tales como caballos, perros o gatos. Además, existe un coste significativo asociado a la compra de múltiples analgésicos.

Las composiciones de la invención proporcionan un modo barato y efectivo para el tratamiento del dolor. Véanse los ejemplos presentados a continuación.

Preferiblemente, las composiciones se administran según se necesiten. Las composiciones pueden incluir penetradores para permitir una penetración profunda en el tejido. Sin embargo, las composiciones se pueden administrar usando cualquier cantidad y cualquier ruta de administración efectiva para reducir las dolencias musculares y articulares. De esta manera, la expresión "cantidad efectiva para reducir dolencias musculares y articulares", tal como se usa en la presente memoria, se refiere a una cantidad no tóxica pero suficiente de la composición para proporcionar la reducción deseada de la dolencia muscular y articular. La cantidad exacta

15 requerida variará de hospedante a hospedante, dependiendo de la especie, edad, tamaño, peso y condición general del hospedante individual, de la gravedad de la dolencia, de la formulación química particular y de su modo de administración, y similares.

Las presentes composiciones se pueden usar para tratar el dolor asociado a muchas afecciones mediante aplicación tópica de las composiciones en el área del dolor. Específicamente, las composiciones de la presente memoria se pueden usar para tratar dolor, que incluye, aunque sin limitación, artritis, dolor asociado a cáncer, dolor de cuello,

25 dolor de hombro, dolor de espalda, dolor quirúrgico, dolor preoperatorio y postoperatorio, síndrome de articulación mandibular temporal, síndrome del túnel carpiano, y dolor de lesión ósea.

Las composiciones de la presente invención también pueden usarse para tratar dolor asociado a osteoartritis, enfermedades auto-inmunes tales como artritis reumatoide y artritis psoriática, gota, pseudo gota, espondilitis anquilosante, artritis juvenil, lupus eritematoso sistémico, artritis asociada a una infección, escleroderma y fibromialgia.

30

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar el dolor muscular, el dolor asociado a tensión muscular, fatiga, curvatura de la espina, compresión discal espinal menor o mayor, nervios punzados, músculos luxados o con esguinces, y tensión nerviosa.

Además, las presentes composiciones pueden usarse para tratar el dolor asociado a lesiones traumáticas, hematomas, miositis, síndromes lumbares, estenosis espinal, dolor articular, dolor óseo y fracturas óseas producidas por cáncer metastásico, tal como cáncer de mama, de pulmón o de próstata. Otros cánceres que pueden producir este tipo de dolor incluyen sarcomas y osteosarcomas. La presente composición también puede usarse para tratar dolor muscular, óseo y articular asociado generalmente a cáncer.

35

Las presentes composiciones pueden usarse para tratar el dolor asociado a fracturas osteopórticas de la espina lumbar y de otros sitios, y fracturas óseas traumáticas, que incluyen fracturas pélvicas. Con respecto al dolor articular, las composiciones de la presente memoria pueden usarse para reducir la rigidez articular general y para aumentar la movilidad articular.

40

Las presentes composiciones también pueden usarse para tratar el dolor asociado a procedimientos ortopédicos pre-quirúrgicos y post-quirúrgicos. Por ejemplo, las presentes composiciones se pueden aplicar para tratar un dolor de este tipo antes o después de una artroscopia, especialmente en los hombros o en las rodillas.

45

Adicionalmente, las presentes composiciones pueden usarse para tratar el dolor asociado a la recuperación ortopédica post-quirúrgica, tal como en reparaciones de tendones, músculos y huesos, así como la sustitución de articulaciones, que incluyen sustitución de cadera o rodilla. Por ejemplo, las fracturas óseas requieren el uso de placas, tornillos y otros medios de unión para mantener unidos los huesos. La colocación de dichos dispositivos requiere cirugía, y el dolor post-quirúrgico resultante puede tratarse con las presentes composiciones.

50

Además, las composiciones de la presente memoria pueden usarse para tratar el dolor producido por núcleo pulposo herniado (disco desplazado), dolor musculo esquelético, dislocaciones de articulaciones, disco intervertebral herniado, disco intervertebral prolapsado (que incluye lumbar y cervical), disco roto, lesión de latigazos, fibromiositis, dolor de costilla intercostal, desgarro muscular, tendinitis, bursitis, desgarro de menisco, desgarro de tendón, y espolones óseos. Las composiciones de la presente memoria también pueden usarse para tratar el dolor de hiperactividad muscular cervical (espasmos), una afección extremadamente común con muchas causas, que

55

incluyen tensión, respuesta a articulación inflamada o subluxada, cambios artríticos, postura incorrecta o hábitos del trabajo, trauma, enfermedad sistémica y patología adyacente.

Las composiciones de la presente invención pueden usarse para tratar el dolor producido por lesiones de tipo deportivo. Dichas lesiones deportivas incluyen, aunque sin limitación, hematomas, moratones, esguinces (p.ej., esguince de tobillo), espasmos musculares (p.ej., músculos estirados), desgarros parciales de tendón, tendinitis, bursitis, miositis, artritis traumática y post-inserción de dislocación de articulación. Para tratar el dolor asociado a lesiones deportivas, las presentes composiciones se aplicarían en el área de dolor como se ha descrito en la presente memoria. Las presentes composiciones pueden usarse en combinación con técnicas de terapia de lesiones deportivas tales como la fisioterapia, la acupuntura, el entrenamiento con peso, las técnicas de bio-retroalimentación, entre otras.

Las presentes composiciones también pueden usarse en el tratamiento de dolores propios de ciudadanos de edad avanzada. Gran parte del dolor óseo, articular o muscular que experimentan los mayores es resultado de una combinación de fuentes. Algunas de dichas fuentes son conocidas, otras no. En determinados casos, dicho dolor es una consecuencia natural de las enfermedades producidas por el proceso de envejecimiento, que incluyen dolor acompañado de una disminución de la función motora, atrofia, cambios de dieta, entre otros. Por consiguiente, el tratamiento del dolor en mayores es difícil. A menudo, los mayores requieren tomar múltiples medicaciones al día a fin de controlar de forma efectiva su dolor. Esto genera desventajas significativas a los mayores, tales como efectos secundarios de las medicaciones, reacciones adversas al mezclar las medicaciones, así como un coste excesivo y un esfuerzo excesivo para mantener el régimen de medicación requerido a diario.

Por tanto, el uso de las presentes composiciones para tratar dolor óseo, articular o muscular en mayores puede ser efectivo para minimizar la cantidad de medicación de tratamiento del dolor que ya toman, o que tendrían que tomar en el futuro. Asimismo, el dolor en mayores contribuye a depresión, inactividad e inmovilidad en este grupo de edad. La disminución del dolor resultante del uso de las presentes composiciones daría como resultado una mayor independencia, un aumento de la actividad, socialización, apetito y sentido general de bienestar en un paciente de edad avanzada.

Adicionalmente, las composiciones de la presente invención pueden utilizarse como adjunto a la fisioterapia. Generalmente, la fisioterapia implica tratamientos o metodologías pasivas y activas para fortalecer y/o curar músculos, tendones, huesos y articulaciones. Las desventajas de la fisioterapia incluyen el dolor y la incomodidad para el paciente. Las formulaciones de la presente invención pueden usarse para tratar dicho dolor. Por ejemplo, la presente formulación se puede aplicar al área del dolor (tal como se describe en la presente memoria) antes, durante y/o después del tratamiento de fisioterapia.

Las presentes composiciones también pueden usarse para tratar el dolor asociado a tejido inmovilizado. El tratamiento de músculos, huesos, tendones y articulaciones dañados a menudo requiere que los tejidos sean inmovilizados durante periodo de tiempo largo. En estas circunstancias, el tejido se mantiene inmovilizado mediante una variedad de dispositivos que incluyen, aunque sin limitación, rodilleras/coderas, cabestrillos, escayolas, vendas y tablillas. A menudo, cuando se retira el dispositivo y después, el paciente experimenta dolor muscular, óseo, de tendón y/o articular en el área inmovilizada o alrededor de ella. La presente formulación se puede usar para tratar dicho dolor aplicando la formulación al área de dolor del modo descrito en la presente memoria.

La TENS o estimulación electro-nerviosa transcutánea se caracteriza por una corriente sensorial de alto voltaje y se usa para bloquear el dolor. Las presentes composiciones pueden usarse en combinación con la estimulación neuromuscular eléctrica para aumentar la eficacia del tratamiento del dolor. Por ejemplo, antes o después del tratamiento con estimulación neuromuscular eléctrica, la presente composición puede aplicarse al área afectada en el modo descrito en la presente memoria.

La presente composición también puede usarse en combinación con inyecciones locales o de otro tipo de un anestésico, tal como lidocaína (con y sin esteroides). Por ejemplo, se puede inyectar una aguja que contenga lidocaína (con o sin esteroides) en la piel que recubre el área del dolor. Dicho área de la piel puede anestesiarse adicionalmente aplicando la presente composición en el sitio de inyección, o alrededor de él, antes o después de la inyección.

Adicionalmente, la presente composición se puede usar en combinación con analgésicos o anti-inflamatorios orales (p.ej., NSAIDS e inhibidores de Cox-2) para aliviar el dolor. Cuando se usa de este modo, por ejemplo, la composición de la presente memoria puede proporcionar un efecto de alivio del dolor potenciado y/o aditivo.

La presente composición también puede usarse en combinación con dispositivos de tratamiento con calor que incluyen, aunque sin limitación, sistemas calientes tales como mantas calefactoras o toallas calientes. Dichos dispositivos también pueden incluir diatermia que es un tratamiento con calor de tejidos profundos, en donde la temperatura de los tejidos lesionados es elevada mediante corrientes de alta frecuencia, ondas de ultrasonidos o radiación microondas. La diatermia se usa para reducir el dolor, aliviar espasmos musculares, reducir contracturas de tejido blando, resolver inflamación y promover la curación. Las presentes composiciones se pueden usar en combinación con sistemas calientes o diatermia para proporcionar un efecto de alivio potenciado y/o aditivo.

Además, la presente composición puede usarse en combinación con agentes de tipo morfina, tales como codeína, opiáceos, oxi-contina, Percocet, Demorol y Vicadina. Cuando se usa de este modo, por ejemplo, los agentes de tipo morfina, junto con cualquiera de las formulaciones de la presente invención, pueden lograr un efecto analgésico que de otro modo requeriría una mayor dosis de opioides pero con menores efectos secundarios.

5 Adicionalmente, la presente composición puede usarse en combinación con técnicas de bio-retroalimentación. La bio-retroalimentación es una técnica útil para lograr una reducción del estrés, reducir la ansiedad y aliviar síntomas psicósomáticos mediante la monitorización y el control de determinados procesos fisiológicos. El uso de técnicas de bio-retroalimentación en combinación con las composiciones de la presente memoria puede permitir que el paciente alcance una mayor reducción del dolor que a través del uso de dichas técnicas.

10 Las presentes composiciones también pueden usarse en combinación con terapia de acupuntura. La terapia de acupuntura generalmente implica insertar agujas muy pequeñas en determinados puntos específicos de la superficie del cuerpo. La acupuntura ha demostrado su eficacia en la reducción del dolor. La acupuntura también puede ser útil para el tratamiento de la osteoartritis, el dolor lumbar, el síndrome de túnel carpiano, la fibromialgia y otras afecciones que producen dolor crónico. Las composiciones de la presente memoria pueden proporcionar un efecto de alivio potenciado y/o aditivo cuando se usan en combinación con la acupuntura.

15 El dolor asociado al cáncer es una de las formas de dolor más severas. Dicho dolor puede exacerbarse aún más por los tratamientos del cáncer, que incluyen la terapia de radiación y la quimioterapia. Las presentes composiciones pueden usarse para tratar el dolor asociado al cáncer en músculos, huesos y articulaciones. Las presentes composiciones también pueden usarse en combinación con tratamientos disponibles actualmente para dicho dolor para proporcionar un efecto de alivio potenciado y/o aditivo.

20 La utilización de las presentes composiciones para reducir el dolor en pacientes con cáncer produciría, por ejemplo, un mejor humor y motivación en el paciente, así como un alivio del dolor del propio cáncer y del dolor generado por los tratamientos de terapia continuada contra el cáncer del paciente. Asimismo, cuando es tratado de este modo, el paciente puede experimentar una movilidad mejorada, aumentando así las posibilidades del paciente de llevar a cabo con éxito las actividades diarias y mejorando el bienestar general del paciente. Mediante el uso de las composiciones de la presente memoria, el paciente también puede experimentar una mayor flexibilidad a la hora de ir y venir a las sesiones de tratamiento del cáncer.

#### *Kits*

(realización descrita)

30 En una realización preferida, la invención proporciona kits que comprenden composiciones de CoQ10 para el tratamiento de heridas, dolor, fatiga y similares. Las preparaciones transdérmicas, orales e intravenosas de 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona (coenzima Q-10) comprenden, entre otros, agentes auxiliares, una cantidad efectiva de tensioactivo pulmonar y/o en combinación con liposomas.

35 En una realización preferida, las composiciones de CoQ10 pueden comprender además CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferiblemente, la composición comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10.

40 Los siguientes ejemplos se ofrecen a modo de ilustración, no a modo de limitación. Aunque se han proporcionado ejemplos específicos, la descripción anterior es ilustrativa y no restrictiva. Una cualquiera, o más de una, de las características de las realizaciones descritas previamente se pueden combinar de cualquier manera con una o más características de otras realizaciones cualesquiera de la presente invención. Además, para los especialistas en la técnica serán evidentes muchas variaciones de la invención tras revisar la especificación.

#### **EJEMPLOS**

*Ejemplo 1* (realización descrita)

45 : un estudio in vitro para evaluar su efecto sobre la proliferación de células de músculo liso y sobre la producción de ATP del ingrediente activo Q10

La composición es una formulación tópica que contiene liposomas de fosfolípido que encapsulan el productor de energía intracelular, la Coenzima Q10 (Q10). Los datos muestran una correlación directa entre la Q10 usada en nuestra formulación tópica y la producción de energía.

50 Hemos investigado el efecto de la Q10 sobre la producción de ATP en células de músculo liso aórticas humanas (HASMC). Esta línea celular fue elegida para el estudio en base a su capacidad para producir ATP en niveles detectables por el ensayo de ATP de Luciferina-Luciferasa. También estudiamos el efecto de la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10 sobre la proliferación de células musculares. Los datos muestran que la Q10 suministra ATP a las células musculares en proliferación.

- Las células musculares lisas aórticas humanas (HASMC) fueron obtenidas en la "American Type Culture Collection" (ATCC, Richmond, VA) a P16 en un crio-vial. Medio 231, tripsina-EDTA, inhibidor de tripsina definido, DTI, disolución PSA (penicilina, estreptomina y anfotericina B) y SMGS fueron todos obtenidos en Cascade Biologics™ (Portland, OR). D-(+)-glucosa, coenzima Q10, hidroxitolueno butilado (BHT), fosfato sódico, glicerol, y ácido tricloroacético (TCA) fueron obtenidos en Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO). Phospholipon 90 (95% de fosfolípidos) fue obtenido en American Lechitin Company (Oxford, CT). Triglicérido de cadena media (MCT) fue obtenido en Johnson & Johnson (Evansville, IN). El kit de ensayo de ATP fue obtenido en Calbiochem® (San Diego, CA) y la placa de cultivo de 6 pocillos y de 75 cm<sup>2</sup> fueron obtenidas en Corning® (Atlanta, GA).
- Cultivo de HASMC:* el vial se congeló en nitrógeno líquido tras ser recibido y hasta el inicio de un cultivo. El contenido del vial se mezcló con Medio 231 y SMGS tras descongelar en un baño de agua. Los cultivos (P16-P20) se mantuvieron en matraces de cultivo de 75 cm<sup>2</sup>. Los cultivos se incubaron a 37°C usando carbonato y Medio 231 tamponado con HEPES (pH 7,4) en condiciones húmedas con un 5% de CO<sub>2</sub>. El medio se suplementó con SMGS que contenía un 5% de suero, otros suplementos de crecimiento y una disolución PSA 500X.
- Preparación de células:* aproximadamente a una confluencia del 80%, las células fueron subcultivadas usando tripsina-EDTA para despegar las células e inhibidor de tripsina definido, DTI, para neutralizar la suspensión celular antes de ser centrifugadas a 2500 RPM durante 8 minutos. El sobrenadante fue aspirado y desechado. La partícula celular resultante se suspendió entonces en Medio 231 fresco. Se realizó un recuento de células usando un hemocitómetro antes de sembrar las placas experimentales de 6 pocillos a 200.000 células/pocillo.
- Preparación de reactivos:* se disolvió Q10 en etanol y la disolución se diluyó con Medio 231 a las concentraciones requeridas. El vehículo usado en la preparación de la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10 estaba compuesto por MCT, BHT, glicerol y fosfato sódico tamponado a pH 7,2, y se sometió a ultrasonidos, después se diluyó con Medio 231 hasta las concentraciones experimentales.
- Procedimiento experimental:* se usó D-(+)-glucosa a 10 mM (Peiro et al., *Brit. Jour. of Pharmacology* 133: 967-974 (2001)) como sustrato de energía para la producción de ATP. Los pocillos de la placa de 6 pocillos se incubaron con 0-20 µg/mL de CoQ10, 1 µg y 20 µg/mL de CoQ10, o 1 µg y 20 µg/mL del vehículo de Coenzima Q10, todos en Medio 231. Las placas de pocillos fueron incubadas a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub> durante periodos experimentales especificados. El Medio 231 contiene originalmente Glu 4,6 mM, por lo que solo se añaden 5,4 mM al medio (Dr. Gary D. Shipley, Cascade Biologics, Portland, OR).
- Recuento celular:* las placas de pocillos fueron decantadas para vaciar los pocillos de los reactivos y los residuos fueron aspirados cuidadosamente con un pipeteador electrónico. Se añadieron 0,5 mL de Tripsina-EDTA a cada pocillo durante 5-7 minutos para ayudar en la separación. Tras completar la separación, determinada mediante microscopio, se añadieron 0,5 mL de Medio 231 a la suspensión celular resultante para neutralizar la tripsina. Se tomaron 0,5 mL de dicha suspensión celular para realizar la lectura en un contador celular Coulter.
- Ensayo de ATP:* tras la incubación, el medio se eliminó y se reemplazó con ácido tricloroacético (TCA) frío (4°C) al 1% p/v como tampón de lisis. Este tampón produce la inhibición casi instantánea de las ATPasas (Kangas et al., *Med Biol* 62: 338-343 (1984)). Los pocillos fueron incubados con TCA a temperatura ambiente durante 5 minutos con agitación suave. A continuación se rascaron los pocillos para desalojar las células unidas y para formular una suspensión de lisato celular. Los lisatos de cada pocillo fueron pipeteados arriba y abajo varias veces para formar una suspensión uniforme. Se tomaron muestras de todos los pocillo y se realizó un ensayo de ATP de acuerdo a las instrucciones del fabricante en un luminómetro Berthold® (Bundoora, Australia).
- Análisis de datos:* los resultados fueron analizados para determinar la significancia estadística mediante ANOVA usando el software SigmaStat™. Se realizaron comparaciones posthoc usando el test de Dunnett con un valor de alfa de 0,05.
- Resultados:* Se incubaron células HASM a 37°C y un 5% de CO<sub>2</sub> con 0-20 µg/mL de Coenzima Q10. Las placas de 6 pocillos se incubaron durante 24h en Medio 231. Tras tratamiento con tampón de lisis celular de TCA frío y un rascado suave, las células fueron mezcladas pipeteando. A continuación se tomaron muestras para cuantificación de ATP usando el ensayo de ATP de Lucifera-Luciferasa. (Figura 1; \*Significativo comparado con el control, P<0,05, ANOVA de un sentido y test de Dunnett).
- En la Figura 2, las células HASM fueron incubadas a 37°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> con 0-20 µg/mL de Coenzima Q10, la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10, y el vehículo (V) usado en la composición que comprende aproximadamente entre 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10. Las placas de 6 pocillos fueron incubadas durante 24 h en Medio 231. Tras el tratamiento con tripsina-EDTA y un rascado suave, las células fueron neutralizadas con Medio 231 y mezcladas mediante pipeteo. A continuación las muestras fueron llevadas a cuantificación con un contador celular Coulter. (\*Significativo comparado con el control, P>0,05; ANOVA de un sentido y test de Dunnett).

Tabla 1

Tratamiento ( $\mu\text{g/mL}$ )	Número de células ( $10^4$ )	% de diferencia vs. control (24h)
<b>CONTROL</b>	25,7	N/A
<b>1,0 Vehículo</b>	38,5	49,8%
<b>20,0 Vehículo</b>	40,0	55,6%
<b>1,0 Q-10</b>	42,4	65,1%
<b>20,0 Q-10</b>	63,1	145,6%
<b>1,0 Q-Soothe</b>	57,6	124,20%
<b>20,0 Q-Soothe</b>	94,6	268,0%

5 Figura 3: se incubaron células HASM a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> con 0-20  $\mu\text{g/mL}$  de la composición que comprende entre aproximadamente 0,001% y aproximadamente 60% (p/p) de Coenzima Q10. Las placas de 6 pocillos fueron incubadas durante 24-60 h en Medio 231. Tras tratamiento con Tripsina-EDTA y un raspado suave, las células fueron neutralizadas con Medio 231 y se mezclaron mediante pipeteo. A continuación las muestras fueron llevadas a cuantificación con un contador celular Coulter. (\*Significativo comparado con el control,  $P > 0,05$ ; ANOVA de un sentido y test de Dunnett).

10 Estos resultados indican que la Coenzima Q10 tiene un efecto estimulante en la producción de ATP en HASMC. Los datos indican una correlación entre una concentración incrementada de Q10 y niveles más altos de producción de ATP celular en dichas células. Evaluamos adicionalmente el efecto de Q10 en la proliferación de HASMC. Tal como se presente en la Figura 2, la incubación con las composiciones dio lugar a niveles más altos de proliferación en comparación con el vehículo o el control.

15 Considerados conjuntamente, los datos sugieren que la administración de Q10 a células musculares lisas aórticas humanas aumenta la producción de ATP e implica que el vehículo de fosfolípidos es efectivo para administrar Q10 exógena a las células. Teniendo en cuenta lo anterior, una formulación tópica de Q10 sería capaz de facilitar la administración de Q10 a la vasculatura dérmica subyacente y de activar la producción de ATP. Además, la Q10 es un potente antioxidante y también actuaría como captador de radicales libres, y reduciría el estrés oxidativo relacionado con músculos fatigados y articulaciones doloridas.

20 *Ejemplo 2: Examinar el efecto de la composición en la curación de heridas profundas de grosor parcial*

El objetivo de este estudio fue examinar el efecto de la composición de CoQ10 en la curación de heridas profundas de grosor parcial en un modelo porcino.

25 *Animales experimentales:* se usó un modelo porcino para nuestra investigación experimental debido a las similitudes morfológicas entre la piel de cerdo y la piel humana. Se mantuvieron alojadas dos cerdas jóvenes libres de patógenos específicos (SPF: Ken-O-Kaw Farms, Windsor, IL) con un peso de 25-30 kg durante dos semanas antes de iniciar el experimento. Estos animales fueron alimentados con una dieta basal *ad libitum* y fueron alojados individualmente en nuestras instalaciones de animales (cumpliendo los requisitos de la "American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care" [AAALAC]) con una temperatura controlada (19-21°C) y una iluminación controlada (12h/12h Luz-Oscuridad).

30 Los protocolos de animales experimentales usados para este estudio fueron aprobados por la "University of Miami Institutional Animal Care and Use Committee" y todos los procedimientos siguieron las guías federales para el cuidado y el uso de animales de laboratorio (Departamento de Sanidad y Servicios Humanos de los EE.UU., Departamento de Agricultura de EE.UU.). Los estudios se llevaron a cabo de acuerdo con el Departamento de Dermatología de la Universidad de Miami y según los procedimientos de operación estándar de cirugía cutánea (Cutaneous Surgery Standard Operating Procedure, SOPs). Los animales fueron monitorizados diariamente para determinar cualquier signo observable de dolor o incomodidad. A fin de ayudar a minimizar las posibles incomodidades, se administró un analgésico buprenorfina, 0,03 mg/kg (inyectable Buprenex; Reckitt Benckiser Hull, Inglaterra) a cada animal el primer día, y cada tres días después de eso, en condiciones de anestesia; durante todo el experimento se usó un sistema transdérmico de fentanilo: 25  $\mu\text{g/h}$  (Duragesic; Alza Corp. Mountain View, CA).

40 *Técnica de herida:* se pinzó el costado y la parte trasera de los animales experimentales con pinzas de animales estándares en el día del experimento. La piel de ambos costados de cada animal se preparó para la herida lavando con un jabón no antibiótico (barra de jabón Neutrogena; Johnson and Johnson, Los Angeles, CA) y agua estéril. Cada animal fue anestesiado intramuscularmente con tiletamina HCl más zolazepam (1,4 mg/kg) (Telazol; Laderle Parenterals Inc., Carolina, Puerto Rico), xilazina (2,0 mg/kg) (X-jet; Phoenix Scientific Inc., St. Joseph, MO), y atropina (0,04 mg/kg) (Atrojet SA; Phoenix Scientific Inc, St. Joseph, MO) seguido de inhalación con mascarilla de un isoflurano (Isothesia; Abbott Laboratories, Chicago, IL) y combinación con oxígeno.

Se realizaron aproximadamente 90 heridas rectangulares que medían 10 mm x 7 mm x 0,5 mm de profundidad en el área paravertebral y torácica con un electroqueratomo especializado ajustado a una hoja de 7 mm. Las heridas estaban separadas entre sí por aproximadamente 15 mm de piel libre de heridas.

5 *Tratamientos:* Se asignarán treinta (30) heridas aleatoriamente a cada grupo de tratamiento según el diseño experimental presentado en la Figura 4. Las heridas serán tratadas con sus respectivas pomadas tópicas una vez al día durante cinco días.

10 *Determinación de la migración epidérmica:* comenzando el día 5 después de practicar las heridas (Día 0), y todos los días después de eso hasta cinco días, se realizaron escisiones de cinco (5) heridas y de la piel normal circundante en cada grupo de tratamiento usando un electroqueratomo con una hoja de 22 mm fijada a una profundidad de 0,7 mm. Todos los especímenes que fueron escindidos intactos fueron descartados. La piel escindida que contenía el sitio de la herida se incubó en bromuro sódico 0,5 M a 37°C durante 24 horas, lo que permitió la separación de la dermis de la epidermis (ver diagrama). Después de la separación, la lámina epidérmica fue examinada macroscópicamente en busca de defectos. Los defectos se definen como agujeros en la lámina epidérmica o carencia de continuidad epidérmica en el área de la herida. La epitelización se considera completa (curada) si no hay presente(s) defecto(s); cualquier defecto en el área indica que la curación es incompleta. Las muestras montadas fueron retenidas para un registro permanente. La Figura 5 es una ilustración esquemática que muestra el diagrama de determinación de la migración epidérmica.

20 *Resultados:* en el día 5, mostrado en la Figura 6A, ninguna de las heridas de ningún tratamiento estaba completamente re-epitelizada. En el día 6 (Figura 6B), el ochenta por ciento (80%) de las heridas del grupo tratado con CoQ A (1% p/p de Coenzima Q10) estaba completamente re-epitelizada, en comparación con el veinte por ciento (20%) de las tratadas con CoQ B (placebo), y ninguna herida del grupo no tratado. El día 7 (Figura 6C), el cien por ciento (100%) de las heridas tratadas con CoQ A y con CoQ B estaban completamente re-epitelizadas, en comparación con el cero por ciento de las heridas del grupo no tratado. En el día 8 (Figura 6D) un cien por ciento (100%) de las heridas tratadas con CoQ A y con CoQ B estaban completamente re-epitelizadas, en comparación con el cero por ciento de las heridas del grupo no tratado. En el día 9 (Figura 6E), todas las heridas de todos los grupos de tratamiento estaban completamente re-epitelizadas.

**Tabla 2. Resultados de re-epitelización**

Grupo de tratamiento	Días después de practicar la herida				
	5	6	7	8	9
<b>Q-Sooth A</b>	0/5 <b>(0%)</b>	4/5 <b>(80%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>
<b>Q-Sooth B</b>	0/5 <b>(0%)</b>	1/5 <b>(20%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>
<b>No tratado</b>	0/5 <b>(0%)</b>	0/5 <b>(0%)</b>	0/5 <b>(0%)</b>	0/5 <b>(0%)</b>	5/5 <b>(100%)</b>

*Ejemplo 3 (referencia):*

30 *La Coenzima Q10 potencia la proliferación y la migración de fibroblastos y queratinocitos: implicaciones para la curación de heridas*

35 La proliferación y migración de queratinocitos y fibroblastos son cruciales para la restauración de la arquitectura cutánea. Varios estudios han sugerido que la Coenzima Q10 (Q10) protege a las células normales cuando se exponen a estímulos apoptóticos (p.ej., privación de suero, radiación UV, etc.). La Q10 es un potente antioxidante esencial en la producción de ATP a través de la fosforilación oxidativa en las mitocondrias, y se ha demostrado que aumenta la producción de ATP en una variedad de tipos de células. Para evaluar el efecto de la Q10 en fibroblastos y queratinocitos neonatales, se empleó un modelo de herida incisa *in vitro*. Las células fueron sembradas en placas de cultivo de tejido de 6 pocillos con medio suplementado y se incubaron durante 48 horas para facilitar un nivel de confluencia del 90% antes de la experimentación. Se realizó un hueco de "herida" con forma de cruz entre la monocapa de células confluentes en el centro de cada pocillo. Las células despegadas fueron eliminadas mediante lavado con medio. A continuación se rellenaron todos los pocillos con medio o sin Q10. Los cultivos celulares fueron examinados y se capturaron imágenes usando un microscopio invertido Zeiss Axiovert 200 con una cámara digital a diversos intervalos de tiempo. El centro de la cruz se usó para posicionar el hueco. La migración celular se cuantificó mediante el tiempo y el porcentaje de hueco de "herida" cubierto por células que habían migrado a la zona del hueco. El porcentaje de hueco llenado (PGf) se calculó como  $PGf = (1 - At/A0) \times 100$ , en donde At es el área de hueco a tiempo t, y A0 es el área de hueco a tiempo 0. Se llevó a cabo un análisis estadístico usando el test de t de student. Los datos indican un aumento estadísticamente significativo de la velocidad de cobertura del hueco en el



grupo tratado con respecto al control. Estos datos sugieren que la Q10 puede ayudar a la curación de heridas y sirven de punto de partida para posteriores investigaciones.

5 *Métodos:* se cultivaron fibroblastos neonatales humanos (nFIB) y queratinocitos neonatales humanos (SC-KC) hasta ~90% de confluencia en matraces T-75, momento en el cual fueron tripsinizados y sembrados en placas de cultivo de tejido de 6 pocillos. Las placas fueron incubadas a 37°C en condiciones humidificadas y con un 5% de CO<sub>2</sub>. Tras alcanzar un 90% de nivel de confluencia, se realizó un hueco con forma de cruz en cada pocillo para imitar una herida incisa usando una punta de pipeta P-200. Se cambió el medio para los tratamientos indicados inmediatamente después de la inducción de la cruz, lo cual significó el tiempo 0. Los cultivos celulares fueron examinados y se capturaron imágenes usando un microscopio invertido Zeiss Axiovert 200 con una cámara digital a diversos intervalos de tiempo. Se cuantificó la migración celular con el tiempo y el porcentaje de hueco de “herida” cubierto por las células que habían migrado al área del hueco. El porcentaje de hueco llenado (PGf) se calculó como PGf =  $(1-A_t/A_0) \times 100$ , en donde A(t) es el área de hueco a tiempo t, y A0 es el área de hueco a tiempo 0. Se llevó a cabo un análisis estadístico usando el test de t de student.

10 Las Figuras 7-10 muestran los resultados obtenidos. La Figura 7 muestra el efecto de Q10 sobre la migración de fibroblastos; la Figura 8 muestra el efecto de Q10 sobre la migración de queratinocitos; la Figura 9 muestra el efecto de Q10 sobre la proliferación de fibroblastos; la Figura 10 muestra el efecto sobre la proliferación de queratinocitos. Estos datos sugieren el uso de la Coenzima Q10 en la curación de heridas, y que la coenzima Q10 potencia la migración y la proliferación de queratinocitos y fibroblastos normales.

15 La Figura 11 muestra el efecto de la coenzima Q10 sobre la producción de ATP en células musculares lisas aórticas humanas. Las células musculares lisas aórticas humanas (HASMC) fueron incubadas a 37°C y con un 5% de CO<sub>2</sub> con 0-20 µg/mL de Coenzima Q10. Se incubaron placas de 6 pocillos durante 24 h en Medio 231. Tras tratamiento con tampón de lisis celular TCA frío, se llevó a cabo un ensayo de ATP usando el método de Luciferina-Luciferasa. \* Significativo comparado con el control, P<0,05 (ANOVA de un sentido y método de Dunnett).

20 En resumen, los efectos potenciales de la CoQ10 en la curación de heridas incluyen la proliferación y migración celular; un aumento de la demanda de ATP; cambios en el equilibrio prooxidante-antioxidante; cambios en la estabilidad de la membrana celular y de orgánulos; y apoptosis.

25 *Ejemplo 4 (referencia): Composición de CoQ10 – Ensayo clínico*

Este ensayo clínico es un estudio IRB doblemente ciego aprobado del departamento Atlético de la Universidad de Miami. La composición de CoQ10 se administra a sujetos con dolor articular o fatiga muscular. Se analizó cada sujeto para determinar mejoras en dolor, fatiga, dolencia y bienestar general. La Figura 12 es un gráfico que muestra una determinación general de los datos obtenidos a partir del estudio clínico del alivio del dolor después del tratamiento con CoQ o con placebo.

30 *Efecto de las composiciones de CoQ10 sobre el alivio de dolor:* este ensayo clínico es un estudio IRB doblemente ciego aprobado del departamento Atlético de la Universidad de Miami. La composición de CoQ10 se administra a sujetos con dolor articular o fatiga muscular. Se analizó cada sujeto para determinar mejoras en dolor, fatiga, dolencia y bienestar general. La Figura 13 muestra los datos preliminares del estudio clínico de alivio de dolor después del tratamiento con la composición de CoQ10 o con placebo.

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.** Una composición tópica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de entre 0,001% y 60% (p/p) de CoQ10; liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable para uso en un método de aceleración de la curación de una herida profunda de grosor parcial, en donde la composición se administra tópicamente una vez al día en la zona de la herida profunda de grosor parcial.
- 2.** La composición tópica para uso según la reivindicación 1, en donde la CoQ10 está encapsulada en liposomas y/o en donde la composición acelera la re-epitelización de la herida profunda de grosor parcial.
- 3.** La composición tópica para uso según la reivindicación 1, en donde la composición aumenta la proliferación y la migración de fibroblastos y queratinocitos en la herida profunda de grosor parcial.
- 10 **4.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición aumenta la producción de ATP.
- 5.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición facilita la administración de CoQ10 a la vasculatura dérmica subyacente.
- 15 **6.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición además mitiga el dolor de la herida.
- 7.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición está en la forma de una loción adecuada para aplicación en la piel o en los ojos.
- 8.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición comprende además uno o más de citocinas, factores de crecimiento, factores migratorios, monocinas, linfocinas, factores de diferenciación, hormonas, analgésicos y calmantes.
- 20 **9.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la composición se administra mediante administración liposómica o mediante difusión desde un dispositivo impregnado con la composición.
- 25 **10.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que además comprende uno de:
- un agente antimicrobiano, preferiblemente nitrato o acetato de fenilmercurio, cloruro de benzalconio, acetato de clorhexidina,
  - un agente tensioactivo, preferiblemente un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico, ésteres de sorbitán, o los derivados de polioxietileno de los mismos,
  - 30 un agente de suspensión, preferiblemente una goma natural, derivado de celulosa, un material inorgánico, una sílice sílicea,
  - un sistema tamponante,
  - agua, y
  - 35 un hidrogel, preferiblemente un polímero hidrofílico reticulado que comprende poliuretano, polivinil alcohol, ácido poliacrílico, polioxietileno, polivinilpirrolidona, poli(hidroxietil metacrilato), copolímero, o una mezcla de los mismos.
- 11.** La composición tópica para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que además comprende un potenciador de la penetración cutánea transdérmica, preferiblemente un sulfóxido, amida cíclica, amida, derivado de pirrolidona, poliol, ácido graso lineal o ramificado, alcohol, tensioactivo aniónico, tensioactivo catiónico, tensioactivo no iónico, ácido graso etoxilado, alcohol etoxilado, lecitina, derivado de lecitina, terpeno, aceite de eucalipto, ácido orgánico o éster orgánico.
- 40

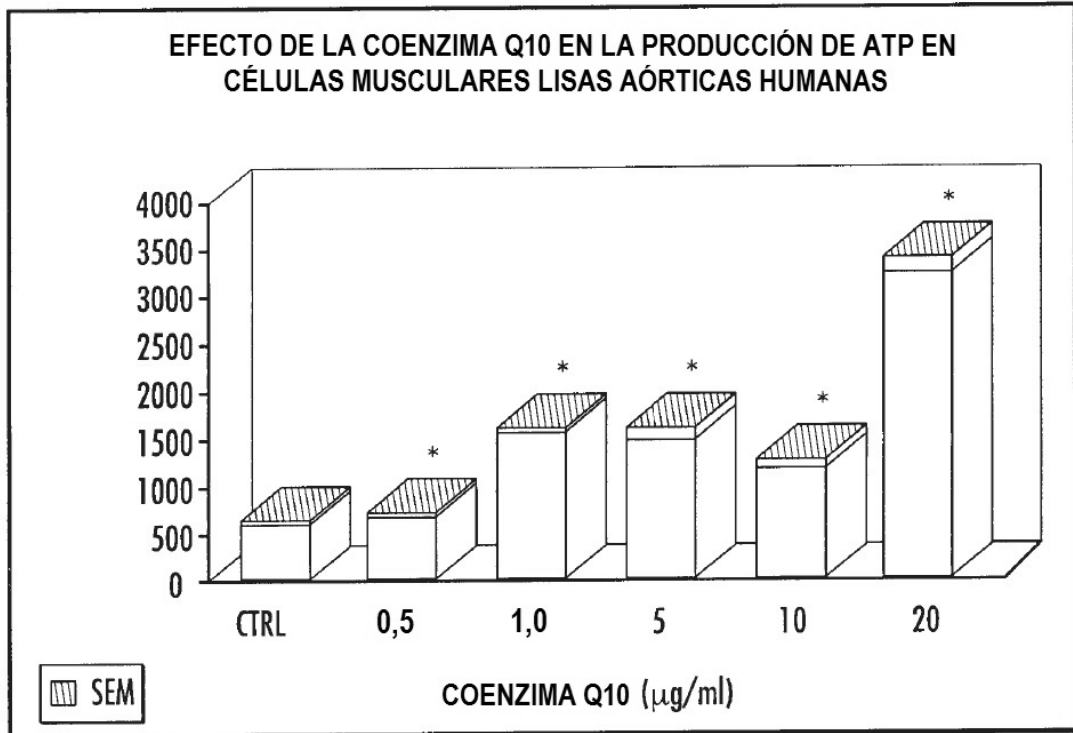


FIG. 1

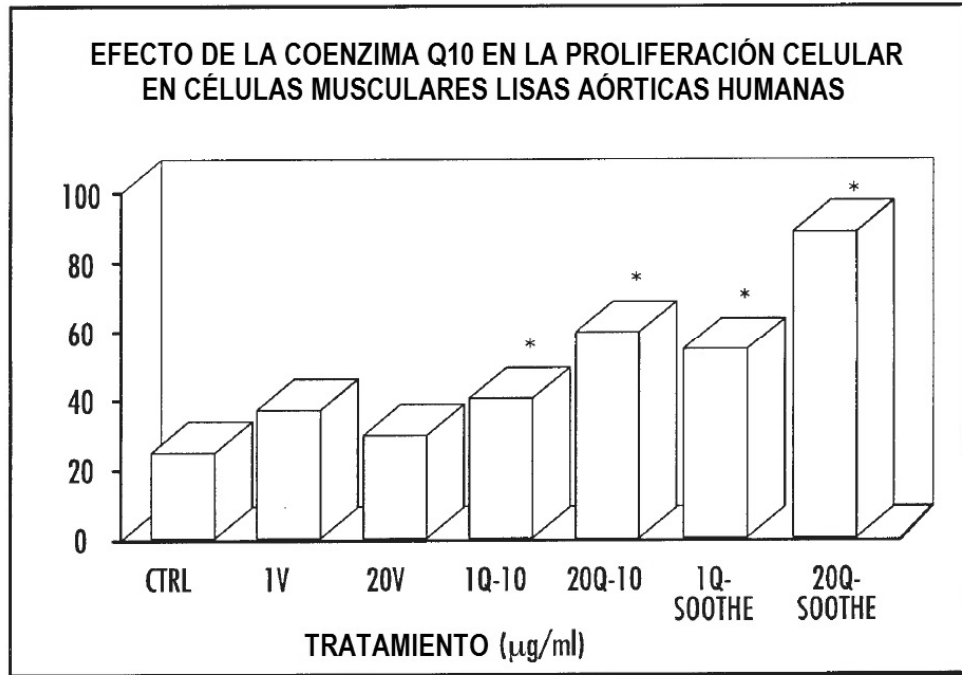
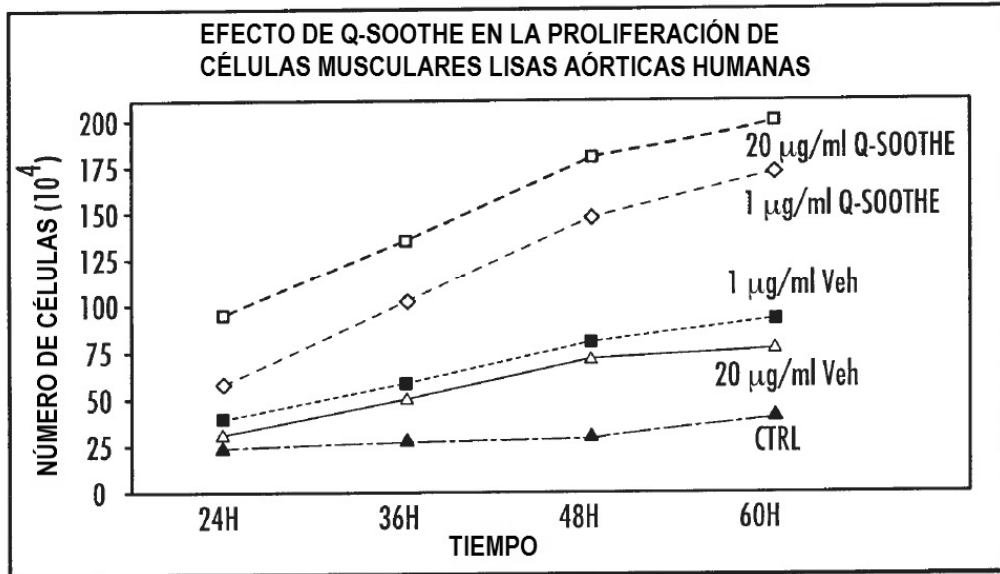


FIG. 2



**FIG. 3**

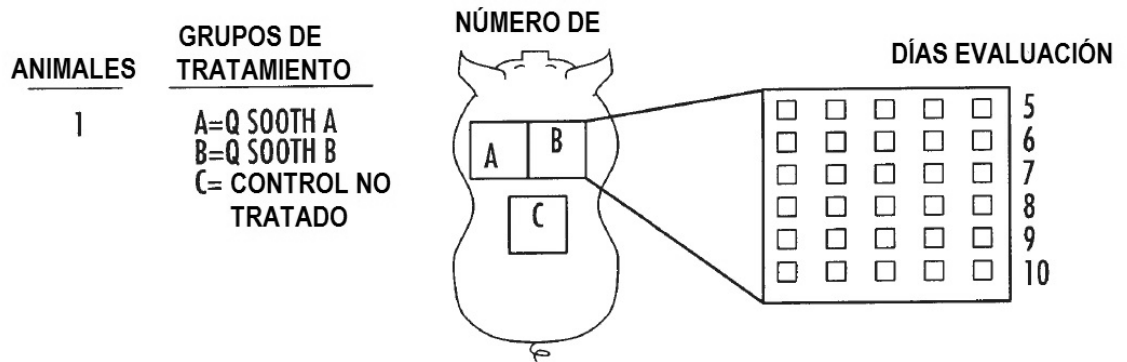
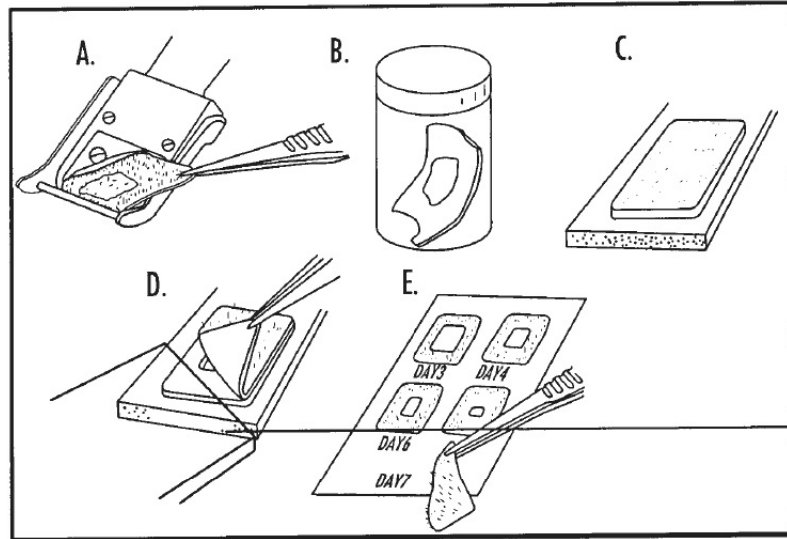
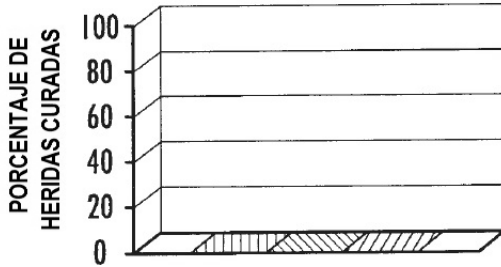


FIG. 4



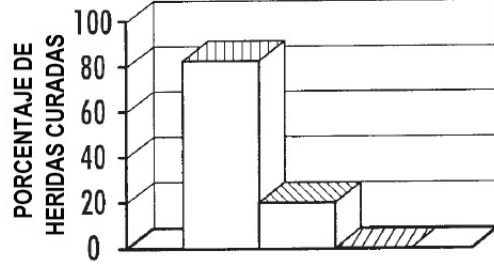
- A: ESCISIÓN DE HERIDA**  
**B: COLOCACIÓN DEL ESPÉCIMEN EN BROMURO SÓDICO PARA INCUBACIÓN**  
**C: COLOCACIÓN DEL ESPÉCIMEN EN PORTA DE VIDRIO PARA SEPARACIÓN**  
**D: SEPARACIÓN DEL ESPÉCIMEN**  
**E: COLOCACIÓN DE ESPÉCIMEN EPIDÉRMICO EN CARTÓN PARA REGISTRO PERMANENTE**

**FIG. 5**



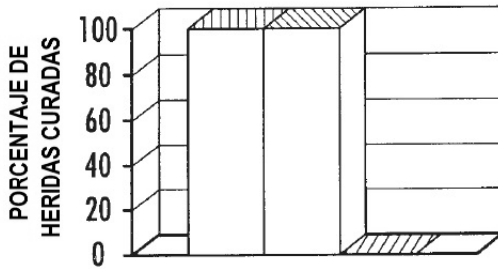
Q-SOOTH A Q-SOOTH B SIN TRATAR

FIG. 6A



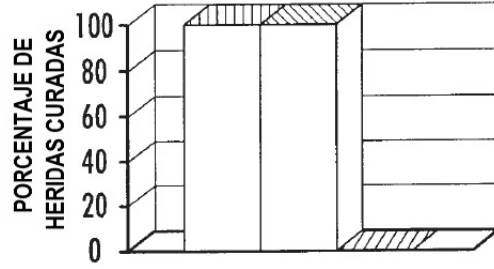
Q-SOOTH A Q-SOOTH B SIN TRATAR

FIG. 6B



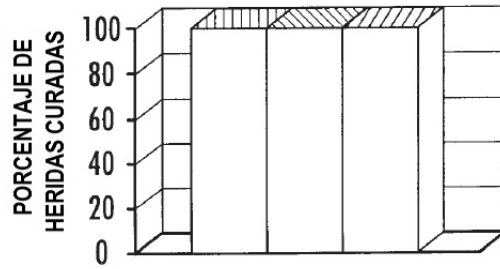
Q-SOOTH A Q-SOOTH B SIN TRATAR

FIG. 6C



Q-SOOTH A Q-SOOTH B SIN TRATAR

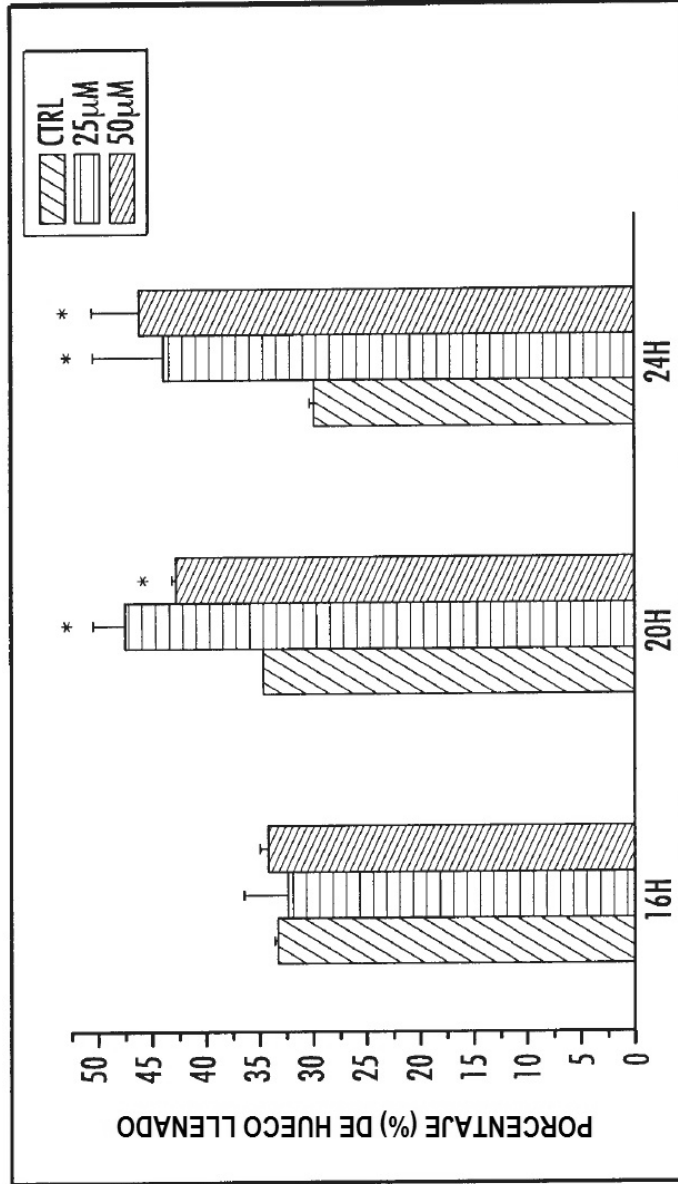
FIG. 6D



Q-SOOTH A Q-SOOTH B SIN TRATAR

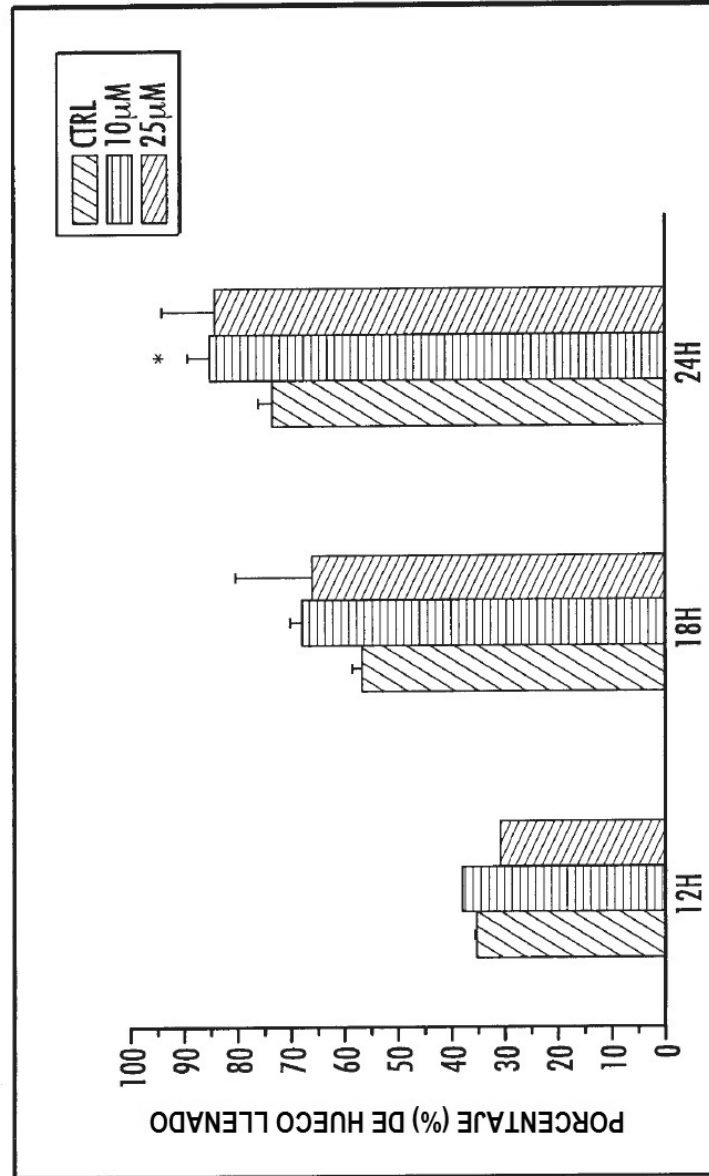
FIG. 6E





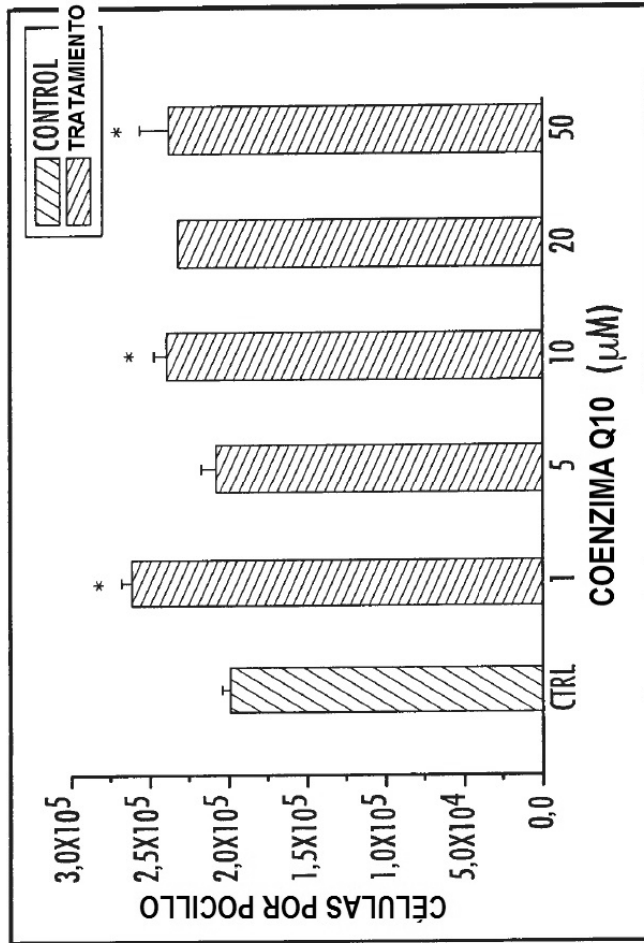
\* SIGNIFICATIVO COMPARADO CON EL CONTROL  $p < 0,05$

FIG. 7



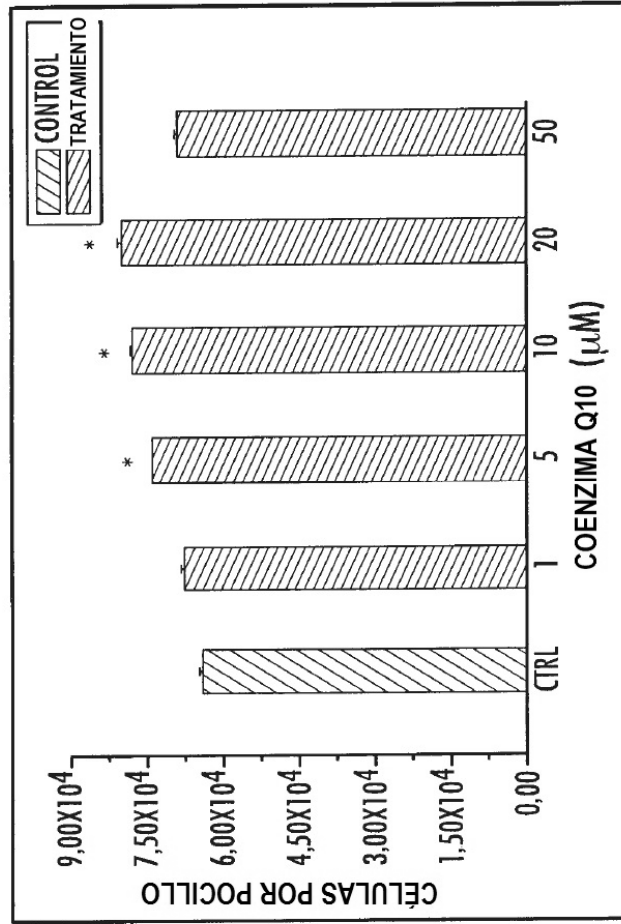
\* SIGNIFICATIVO COMPARADO CON EL CONTROL  $p < 0,05$

FIG. 8



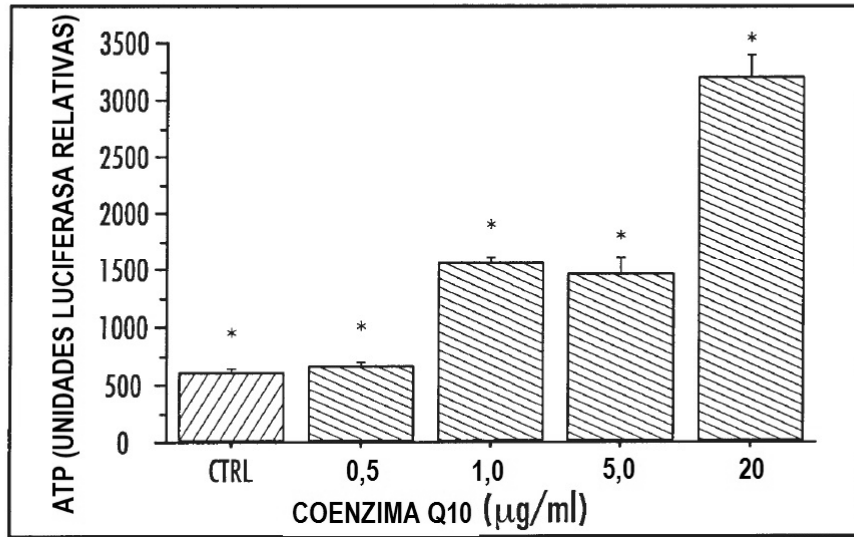
\* SIGNIFICATIVO COMPARADO CON EL CONTROL  $p < 0,05$

FIG. 9

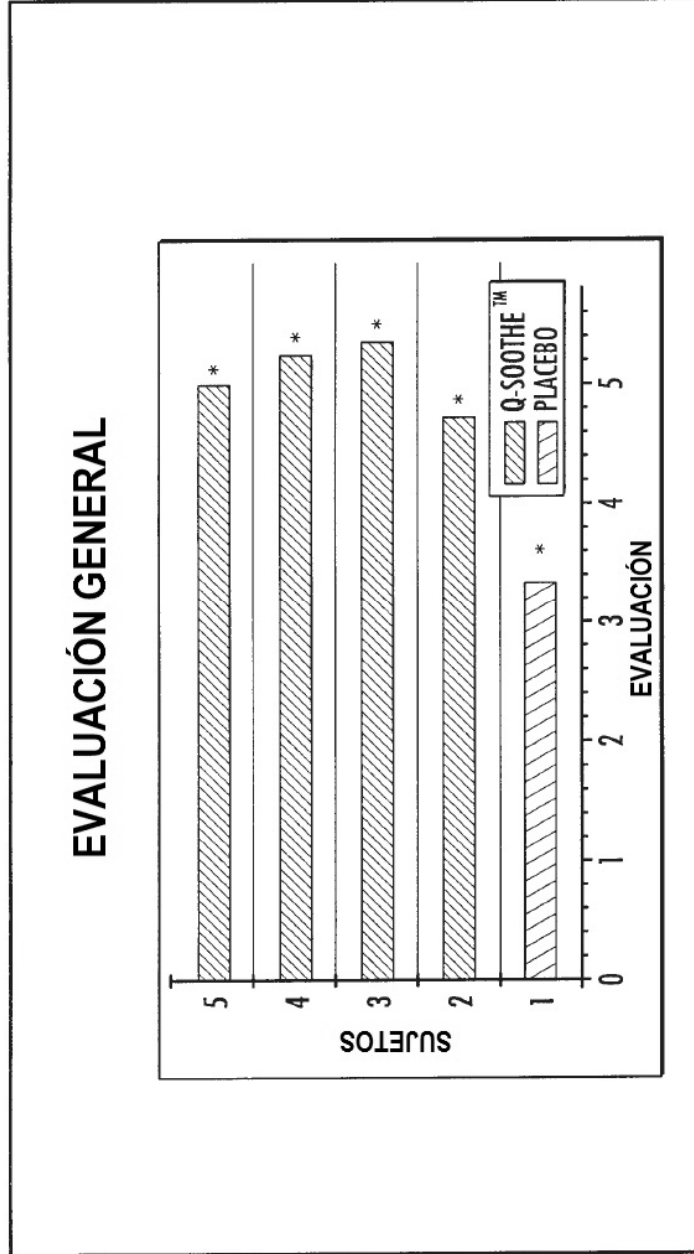


\* SIGNIFICATIVO COMPARADO CON EL CONTROL  $p < 0,05$

FIG. 10



*FIG. 11*



ESTE ENSAYO CLÍNICO ES UN ESTUDIO IRB APROBADO DOBLEMENTE CIEGO EN EL DEPARTAMENTO ATLÉTICO DE LA UNIVERSIDAD DE MIAMI. Q-SOOTHIE SE ADMINISTRA A SUJETOS CON DOLOR ARTICULAR O FATIGA MUSCULAR. SE EVALUÓ CADA SUJETO PARA DETERMINAR MEJORA EN DOLOR, FATIGA, DOLENCIA Y BIENESTAR GENERAL. ES UN GRÁFICO DE DATOS PRELIMINARES DEL ESTUDIO CLÍNICO DEL ALIVIO DE DOLOR TRAS TRATAMIENTO CON Q-SOOTHIE O PLACEBO.

\* SIGNIFICATIVO COMPARADO CON EL CONTROL.,  $p < 0,05$  (TEST-T)

**FIG. 12**

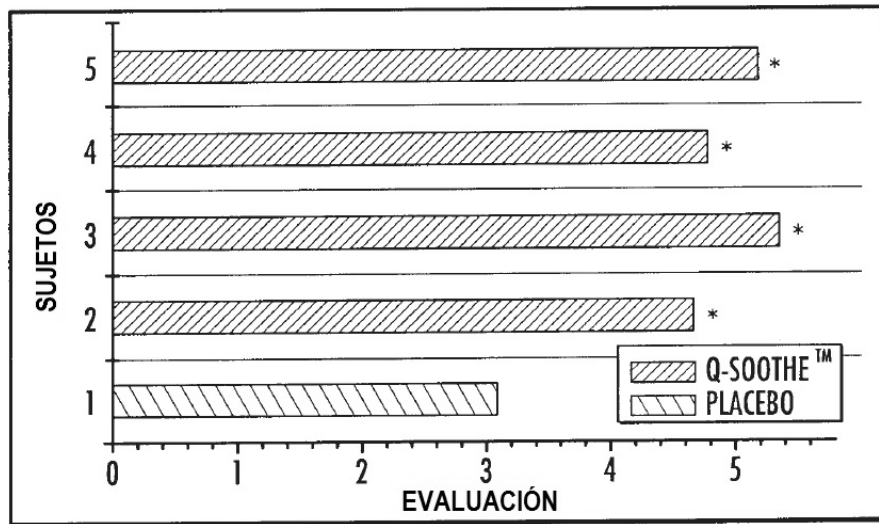


FIG. 13