

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 709**

51 Int. Cl.:

A61K 31/122 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.08.2010 PCT/US2010/046503**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.03.2011 WO11025785**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2010 E 10747777 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.01.2018 EP 2470168**

54 Título: **Métodos para la prevención y el tratamiento de la isquemia cerebral**

30 Prioridad:

26.08.2009 US 275269 P

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

16.04.2018

73 Titular/es:

**BIOELECTRON TECHNOLOGY CORPORATION
(100.0%)
350 North Bernardo Avenue
Mountain View, CA 94043, US**

72 Inventor/es:

**MILLER, GUY, M. y
KHEIFETS, VIKTORIA**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 663 709 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

Métodos para la prevención y el tratamiento de la isquemia cerebral

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere en general a composiciones que comprenden productos terapéuticos activos por rédox en particular tocotrienol quinonas, para prevenir o la tratar isquemia cerebral en un sujeto que experimenta un episodio isquémico cerebral, que experimenta síntomas asociados a o debidos a una afección isquémica o hipóxica cerebral, o que está en riesgo de una afección isquémica o hipóxica cerebral. La invención también se refiere a composiciones que comprenden tocotrienol quinonas para proteger el tejido cerebral de la isquemia cerebral después de un traumatismo en la cabeza o cerebro en sujetos que necesitan dicho tratamiento. La invención también se refiere a la prevención o tratamiento de la isquemia cerebral con una cantidad eficaz de un producto terapéutico activo por rédox, tal como una tocotrienol quinona, para minimizar el tamaño y la gravedad del infarto en el cerebro del sujeto. La presente invención se refiere al tratamiento y la prevención del ictus; la presente invención no se refiere al tratamiento, la mejora o la prevención de una enfermedad mitocondrial tal como "miopatía mitocondrial, encefalopatía, acidosis láctica e ictus" (MELAS, por sus siglas en inglés), donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.

20 **Antecedentes**

La isquemia puede definirse como la pérdida de flujo sanguíneo a un tejido. La isquemia cerebral, también conocida como ictus, es la interrupción o reducción del flujo sanguíneo en las arterias que alimentan el cerebro. La pérdida de flujo sanguíneo a una región vascular particular se conoce como isquemia focal; la pérdida de flujo sanguíneo a todo el cerebro se conoce como isquemia global. Cuando se priva de sangre, y de este modo, oxígeno y glucosa, el tejido cerebral puede sufrir necrosis isquémica o infarto. Los eventos metabólicos que se piensa que subyacen a dicha degeneración y muerte celulares incluyen: insuficiencia de energía a través del agotamiento de ATP; acidosis celular; liberación de glutamato; flujo de entrada de iones de calcio; estimulación de la degradación de fosfolípidos de membrana y posterior acumulación de ácidos grasos libres; y generación de radicales libres.

Los tocoferoles y tocotrienoles, aunque en general son similares en la estructura química global, pueden variar en la función biológica. El alfa-tocoferol se considera en general la forma más biológicamente activa de la vitamina E; también es el más abundante en suero humano de adulto (Neuzil et al, (1998) *Card. Drugs. Ther.* 12: 421-423; Strohschein et al, (1998) *Anal. Chem.* 70: 13-18; Gonzalez (1990) *Med. Hypothes.* 32: 107-110). El alfa-tocoferol tiene una actividad antioxidante mayor que los otros tocoferoles (Fukuzawa et al., (1982) *Lipids* 17: 511-13). El alfa-tocoferol, pero no el beta-tocoferol, inhiben la función de la proteína cinasa C (Ricciarelli et al., (1998) *Biochem. J.* 334: 243-249). Sin embargo, tanto alfa como beta-tocoferol inhiben la actividad de la fosfolipasa A2 pancreática porcina (Grau et al., (1998) *Chem. Phys. Lipids* 91: 109-118). Alfa, beta, gamma y delta-tocoferol fueron todos capaces de inhibir la generación de superóxido por neutrófilos (Kanno et al., (1996) *Free Radic. Res.* 24: 181-189). El delta-tocoferol tiene solamente una centésima parte de la actividad del alfa-tocoferol natural en el ensayo de esterilidad por resorción de Evans para la vitamina E.

Khanna et al., describe propiedades neuroprotectoras del alfa-tocotrienol de vitamina E natural (*Stroke* (2005); 36, el44-el52). Se estudió el daño del tejido cerebral dependiente del ictus en ratones deficientes en 12-Lox y ratas espontáneamente hipertensas complementadas por vía oral con alfa-tocotrienol. En células neuronales, las concentraciones de nM/L de alfa-tocotrienol, pero no de alfa-tocoferol, bloquean la muerte inducida por glutamato suprimiendo la activación temprana de cinasa c-Src y 12-lipoxigenasa.

La solicitud internacional WO 00/078296 desvela un método para el tratamiento o la profilaxis de trastornos neurodegenerativos por glutamato y/o inducidos y daño neuronal que se inician por isquemia, reperusión, traumatismo o sangrado masivo.

La solicitud internacional WO 99/025336 desvela la prevención de la reestenosis usando un procedimiento angioplástico que comprende el revestimiento de la superficie exterior de un balón angioplástico con una composición que comprende un tocotrienol y realizar el procedimiento angioplástico arterial, de manera que una cantidad profilácticamente eficaz de la composición se transfiera al interior de la superficie de la arteria.

En el tratamiento de la isquemia cerebral, los neutralizantes de radicales/antioxidantes se han usado para mejorar el flujo de sangrado cerebral y/o resultado neurológico. En general, los efectos de estos compuestos en el volumen de infarto no han sido uniformes; véase la Patente de los EE.UU. N.º 5.872.108. Por ejemplo, se ha encontrado que los inhibidores de superóxido dismutasa reducen el volumen de infarto solamente cuando se inyecta por vía intracerebroventricular (Kinouchi et al., (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 11158- 11162). Se ha demostrado que otros compuestos, tales como lubeluzol, tienen un beneficio clínico para la isquemia cerebral pero con un margen de seguridad muy estrecho (Diener et al., (1996) *Stroke* 27: 76-81).

La isquemia cerebral es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad neurológica humana con mal pronóstico asociada a la recuperación del ictus. De este modo, sigue existiendo la necesidad de identificación de composiciones eficaces que ayuden a la supervivencia y recuperación de las células durante la lesión asociada a isquemia cerebral o para sujetos mamíferos en riesgo de lesión asociada a isquemia cerebral.

5

Divulgación de la Invención

La presente invención se refiere a composiciones para el tratamiento y prevención de la isquemia cerebral en un sujeto mamífero. La presente invención se refiere al tratamiento y prevención del ictus y no al tratamiento, mejora, o prevención de una enfermedad mitocondrial donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.

10

La presente invención proporciona una composición para su uso en el tratamiento, la prevención y/o la mejora del daño neuronal asociado a un episodio isquémico cerebral o hipoxia en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, comprendiendo dicha composición una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas; con la condición de que dicho sujeto no padezca una enfermedad mitocondrial.

15

La presente invención también proporciona una composición para su uso en el tratamiento y/o al mejora de un episodio isquémico cerebral o hipoxia en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, comprendiendo dicha composición una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas; con la condición de que dicho sujeto no padezca una enfermedad mitocondrial, donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.

20

25

En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o la mejora de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que el sujeto no padezca o tenga una enfermedad mitocondrial.

30

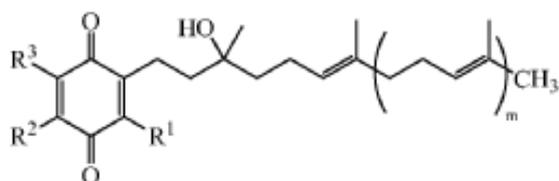
En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o la mejora de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, delta-tocotrienol quinona y gamma-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula I en el plazo de aproximadamente una semana antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente un mes antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente tres meses antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente seis meses antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, o en el plazo de aproximadamente un año antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia. En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o la mejora de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, delta-tocotrienol quinona y gamma-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula 1. Como se usa en el presente documento, un compuesto de Fórmula I se indica como:

35

40

45

50



Fórmula I

55 en la que,

R^1 , R^2 y R^3 son, independientemente entre sí, hidrógeno, alquilo (C_1 - C_6) o alcoxi (C_1 - C_6); y m es un número entero entre 1 y 12, inclusive;

60

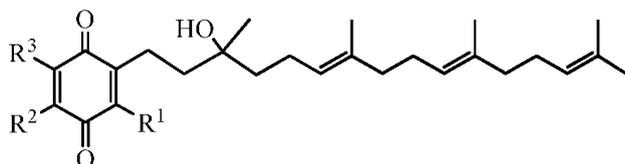
o cualquier estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco, metabolito, sal, forma cristalina, forma no cristalina, hidrato o solvato del mismo.

La presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicha prevención, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gama-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas; con la condición de que dicho sujeto no padezca una enfermedad mitocondrial, donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.

En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gama-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que el sujeto no padezca o tenga una enfermedad mitocondrial.

En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicha prevención, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gama-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula I en el plazo de aproximadamente una semana antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente un mes antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente tres meses antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia, en el plazo de aproximadamente seis meses antes a un episodio isquémico cerebral o hipoxia, o en el plazo de aproximadamente un año antes de un episodio isquémico cerebral o hipoxia. En otra realización, la presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención de una afección isquémica o hipóxica cerebral, en un sujeto mamífero que necesita dicha prevención, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gama-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o mezcla de estereoisómeros de las mismas, con la condición de que el sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula I.

La presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o la mejora de los síntomas de un episodio isquémico cerebral o hipoxia en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona o un solo estereoisómero o mezclas de estereoisómeros de la misma, de la siguiente estructura:



Alfa-Tocotrienol quinona	R ¹ = CH ₃	R ² = CH ₃	R ³ = CH ₃
Beta-Tocotrienol quinona	R ¹ = CH ₃	R ² = H	R ³ = CH ₃
Gamma-Tocotrienol quinona	R ¹ = H	R ² = CH ₃	R ³ = CH ₃
Delta-Tocotrienol quinona	R ¹ = H	R ² = H	R ³ = CH ₃

y por la administración, reduciendo el daño neuronal con relación con dicha afección isquémica o hipóxica cerebral.

En otras realizaciones, la tocotrienol quinona es alfa-tocotrienol quinona. En otras realizaciones, la tocotrienol quinona es beta-tocotrienol quinona. En otras realizaciones, la tocotrienol quinona es gamma-tocotrienol quinona. En otras realizaciones, la tocotrienol quinona es delta-tocotrienol quinona.

En otras realizaciones, al sujeto se le administra una cantidad eficaz de una mezcla de dos o más tocotrienol quinonas seleccionadas entre alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona.

En algunas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o el alivio de los síntomas de una afección isquémica o hipóxica cerebral en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados

entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona. En algunas realizaciones particulares, la presente invención proporciona composiciones para su uso en el tratamiento y/o el alivio de los síntomas de una afección isquémica o hipóxica cerebral en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición que comprende alfa-tocotrienol quinona.

En otras realizaciones, la presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención de una afección isquémica o hipóxica cerebral en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición que comprende uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial, o con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial, o con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona en el plazo de aproximadamente la semana pasada, el mes pasado, los tres meses pasados, los seis meses pasados o el año pasado, o con la condición de que al sujeto jamás se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona. En algunas realizaciones particulares, la presente invención proporciona métodos para prevenir una afección isquémica o hipóxica cerebral en un sujeto mamífero, que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición que comprende alfa-tocotrienol quinona, con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial, o con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial, o con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona en el plazo de aproximadamente la semana pasada, el mes pasado, los tres meses pasados, los seis meses pasados o el año pasado, o con la condición de que al sujeto jamás se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona o delta-tocotrienol quinona.

En algunas realizaciones de la presente invención, la afección isquémica o hipóxica cerebral es secundaria a una oclusión de la vasculatura cerebral y en otras realizaciones la oclusión se debe a una tromboembolia. En realizaciones adicionales, la isquemia cerebral o hipoxia se debe a un espasmo de la vasculatura coronaria, con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial donde el ictus posterior al espasmo de la vasculatura coronaria es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial, o con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial, o con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula I en el plazo de aproximadamente la semana pasada, el mes pasado, los tres meses pasados, los seis meses pasados o el año pasado, o con la condición de que al sujeto jamás se le haya administrado una cantidad eficaz de uno o más compuestos de Fórmula I. En realizaciones adicionales, la afección isquémica o hipóxica cerebral es secundaria a una cesación de la función cardiaca. En realizaciones adicionales, la afección isquémica o hipóxica cerebral es secundaria a un procedimiento de derivación cardiopulmonar. En más realizaciones adicionales, la afección isquémica o hipóxica cerebral es secundaria a un episodio hemorrágico en la vasculatura cerebral.

En otros aspectos más, una composición de tocotrienol quinona para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 55 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 65 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 75 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 % o al menos aproximadamente el 98 % de tocotrienol quinona. En otros aspectos, una composición de alfa-tocotrienol quinona para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 55 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 65 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 75 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, al menos aproximadamente el 90 %, al menos aproximadamente el 95 % o al menos aproximadamente el 98 % de alfa-tocotrienol quinona.

En algunas realizaciones de la presente invención, una composición para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende una tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero. En otras realizaciones más, una composición para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende una tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero. En realizaciones adicionales, una composición comprende una tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero.

En algunas realizaciones de la presente invención, una composición para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende una alfa tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a

aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero. En otras realizaciones más, una composición para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende una alfa-tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero. En realizaciones adicionales, una composición para su uso en los métodos que se describen en el presente documento comprende una alfa-tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal de dicho sujeto mamífero.

En algunas realizaciones, la composición es una composición farmacéutica. En otras realizaciones, la composición es un alimento médico. En algunas realizaciones, la administración de la composición es a través de una vía entérica. En otras realizaciones, la administración de la composición es a través de una vía oral. En más realizaciones adicionales, la administración es a través de una vía parenteral.

En otros aspectos, la presente invención proporciona composiciones de tocotrienol quinona que comprenden una composición enriquecida con alfa-tocotrienol quinona en una cantidad eficaz para reducir el daño neuronal con relación a una afección isquémica o hipóxica cerebral, cuando se administra a un paciente que la necesita. En algunas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones de tocotrienol quinona que comprenden una composición enriquecida con alfa-tocotrienol quinona en una cantidad eficaz para reducir el daño neuronal con relación a una afección isquémica o hipóxica cerebral, cuando se administra a un paciente que la necesita, con la condición de que el paciente no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial donde la isquemia cerebral o hipoxia es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial, o con la condición de que el sujeto no esté padeciendo una enfermedad mitocondrial, o con la condición de que al sujeto no se le haya administrado una cantidad eficaz de una composición de tocotrienol quinona que comprende una composición enriquecida con alfa-tocotrienol quinona en el plazo de aproximadamente la semana pasada, el mes pasado, los tres meses pasados, los seis meses pasados o el año pasado, o con la condición de que al sujeto jamás se le haya administrado una cantidad eficaz de una composición de tocotrienol quinona que comprende una composición enriquecida con alfa-tocotrienol quinona.

Breve Descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra el efecto de la alfa-tocotrienol quinona en la comparación volumétrica (c) del infarto total con administración de alfa-tocotrienol quinona frente a vehículo en reperusión como se describe en el Ejemplo 2. También se proporcionan las imágenes de los cortes cerebrales de datos dosificados con vehículo (a) o con alfa-tocotrienol quinona (b) en reperusión; los cuadros indican el área del infarto.

Modos para realizar la invención

La presente invención en general se refiere a tocotrienol quinonas que se pueden usar en composiciones farmacéuticas que son protectoras en la isquemia cerebral (ictus) o la hipoxia. La presente invención proporciona composiciones para su uso en la prevención o el tratamiento de la isquemia cerebral o la hipoxia, tal como, por ejemplo, reduciendo la muerte celular neuronal, reduciendo el edema de tejido, y/o reduciendo la disfunción cognitiva asociada a un trastorno isquémico cerebral. La presente invención proporciona composiciones para reducir los síntomas y/o afecciones asociados a una afección isquémica o hipóxica cerebral, tal como, por ejemplo, tamaño de infarto, edema de tejido o trastorno cognitivo asociado con la presencia de micro-embolia o una afección hipóxica. La presente invención no se refiere al tratamiento del ictus en un sujeto que padece una enfermedad mitocondrial. En particular, la presente invención no se refiere al tratamiento de ictus en un sujeto que padece una enfermedad mitocondrial, donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.

La presente invención proporciona composiciones de tocotrienol quinona que comprenden al menos aproximadamente el 50 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 55 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 60 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 65 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 70 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 75 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 80 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 85 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 90 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 95 % de alfa-tocotrienol quinona, o al menos aproximadamente el 98 % de alfa-tocotrienol quinona. Como se usa en el presente documento, un "principio activo" es uno que es capaz de tratar o prevenir la isquemia cerebral o hipoxia en un sujeto mamífero. En algunas realizaciones, las composiciones de tocotrienol quinona comprenden alfa-tocotrienol quinona como el único principio activo. En realizaciones preferidas, un principio activo es capaz de reducir el daño neuronal asociado a la isquemia cerebral o hipoxia al menos aproximadamente el 20 %, al menos aproximadamente el 30 %, al menos aproximadamente el 40 %, al menos aproximadamente el 50 %, al menos aproximadamente el 60 %, al menos aproximadamente el 70 %, al menos aproximadamente el 80 %, al menos aproximadamente el 85 %, y aún más preferentemente al menos aproximadamente el 90 %, en modelos experimentales, tales como los que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, la reducción del daño neuronal se mide por comparación del volumen del sistema de modelo experimental tratado frente a el sistema de modelo experimental no tratado (control).

En realizaciones preferidas adicionales, la composición de tocotrienol quinona comprende alfa-tocotrienol quinona en una cantidad eficaz para reducir la muerte celular neuronal, reducir el tamaño de infarto, reducir el edema de

tejido asociado a la afección isquémica o hipóxica cerebral, y/o reducir la disfunción cognitiva, y puede además comprender tocoferol quinona. En otras realizaciones preferidas, la composición de tocotrienol quinona de la presente invención comprende principios activos adicionales. En algunas realizaciones las composiciones que comprenden la tocotrienol quinona y un principio o principios activos adicionales proporcionan un efecto sinérgico.

5 La tocotrienol quinona y un ingrediente adicional se consideran sinérgicos cuando su efecto combinado es mayor que un efecto aditivo de los efectos individuales. En otras realizaciones, las composiciones comprenden alfa-tocotrienol quinona y un ingrediente adicional proporcionando un efecto sinérgico.

Los compuestos objeto pueden evaluarse y validarse como farmacológicamente eficaces usando ensayos *in vitro* basándose en diversas estirpes celulares diferentes conocidas en la técnica, así como también *in vivo* a través de ensayos de órgano completo o animal apropiados, tales como el modelo de corazón aislado de función cardiaca, el modelo de bolsa de aire en rata para inflamación, el modelo de ictus por oclusión de arteria cerebral media en rata (MCAO, por sus siglas en inglés), y otros conocidos por los expertos en la materia.

15 El control del efecto de un tratamiento se puede seguir con imágenes de resonancia magnética (“IRM”). Los métodos de IRM ilustrativos incluyen imágenes específicas de la célula, imágenes de transferencia por magnetización (“ITM”), IRM mejorado por gadolinio, e imágenes ponderadas por difusión (que muestran tejido cerebral muerto), imágenes ponderadas por perfusión (que muestran tejido cerebral privado de oxígeno pero vivo), e imágenes de RM funcionales (IRMf). Por ejemplo, la penumbra isquémica puede identificarse observando diferencias en la región anormal definida por imágenes ponderadas por perfusión e imágenes ponderadas por difusión como se describe en Duong, T. Q. and Fisher, M., (2004) *Curr. Atheroscl. Rep.* 6: 267-273. Esta diferencia en las regiones definidas se conoce como la discordancia perfusión-difusión. Se asume que la región de discordancia de perfusión-difusión se aproxima a la penumbra isquémica. La vasoconstricción y vasoespasmos por lo general se detectan usando angiografía de sustracción digital como se conoce en la técnica.

25 Adicionalmente, el estrés oxidativo regional y el metabolismo de glucosa en lesiones cerebrales pueden evaluarse por imágenes ya tipificadas por tomografía de emisión de positrón (TEP). Se pueden realizar *in vivo* nuevas imágenes dobles, funcionales de estados de energía y redox en diferentes etapas de lesiones similares a ictus usando TEP con [⁶²Cu]-diacetil-bis(N4-metiliosemicarbazona (⁶²Cu-ATSM) y [¹⁸F]-fluorodesoxiglucosa (¹⁸FDG) como se describe en Ikawa M. et al., (2009) *Mitochondrion* 9, 144-148. Se puede aplicar ⁶²Cu-ATSM-TEP para evaluar el estrés oxidativo y flujo sanguíneo cerebral, mientras que se puede aplicar ¹⁸FDG-TEP para diagnosticar el metabolismo de glucosa en las lesiones de ictus.

35 En una realización ilustrativa desvelada en el presente documento, se muestra una composición de alfa-tocotrienol quinona para reducir el infarto total al tiempo de MCAO y el tiempo de reperfusión, cuando se administra por sonda nasogástrica.

Definiciones

40 El término “alquilo” se refiere a grupos alifáticos saturados que incluyen grupos de cadena lineal, cadena ramificada, cíclicos y combinaciones de los mismos, que tienen el número de átomos de carbono especificados, si no se especifica el número, que tienen hasta 12 átomos de carbono. Uno subgrupo de grupos alquilo es alquilo (C₁-C₆) que incluye, pero no se limita a, grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, pentilo, n-pentilo, hexilo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y cualquier otro grupo alquilo que contenga entre uno y seis átomos de carbono, donde los grupos alquilo (C₁-C₆) adicionales se pueden unir a través de cualquier valencia en el grupo alquilo con la condición de que el número total de átomos de carbono sea seis o menos de seis. Otro subgrupo de grupos alquilo es alquilo (C₁-C₄) que incluye, pero no se limita a, grupos como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, butilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, t-butilo, ciclopropilo, y ciclobutilo.

50 El término “alcoxi” se refiere al grupo -O-alquilo, en el que alquilo es como se define en el presente documento. Un subgrupo de grupos alcoxi es alcoxi (C₁-C₆) que incluye, pero no se limita a, grupos tales como metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, ciclo-propoxi, n-butoxi, terc-butoxi, sec-butoxi, ciclo-butoxi, n-pentoxi, ciclopentoxi, n-hexoxi, ciclohexoxi, y 1,2-dimetilbutoxi. Otro subgrupo de grupos alcoxi es alcoxi (C₁-C₄) que incluye, pero no se limita a, grupos tales como metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, ciclo-propoxi, n-butoxi, terc-butoxi, sec-butoxi, y ciclo-butoxi.

55 “Isquemia cerebral” o “isquémica cerebral” o “una afección isquémica cerebral” se refieren a un episodio médico que es patológico en origen, o a una intervención quirúrgica que se impone en un sujeto, en los que la circulación a una región del cerebro está impedida o bloqueada, ya sea temporalmente, como en el vasoespasm o el ataque isquémico transitorio (AIT) o permanentemente (intervención médica ausente), como en la oclusión embólica o trombótica. La región afectada se ve privada de oxígeno y nutrientes como consecuencia del episodio isquémico. Esta privación conduce a la lesión de un infarto en la región afectada. La isquemia ocurre en el cerebro durante, por ejemplo, un ictus tromboembólico, ictus hemorrágico, vasoespasm cerebral, traumatismo craneal, paro cardiaco, pérdida sanguínea grave debido a lesión o hemorragia interna y otras afecciones similares que alteran el flujo sanguíneo normal. También puede ocurrir después de un traumatismo craneal, puesto que la presión causada por el edema presiona y aplana las arterias y venas dentro del cerebro, reduciendo de este modo su capacidad para llevar la sangre a través del cerebro. La isquemia cerebral también puede ocurrir como resultado de una macro o micro-

embolia, tal como puede ocurrir posteriormente a una cirugía de derivación cardiopulmonar.

“Infarto agudo” o “infarto” se refieren a una región de un tejido u órgano sometido a isquemia y que padece la secuencia fisiológica de isquemia. El infarto es resultado de una insuficiencia súbita de suministro de sangre venosa o arterial debido a, por ejemplo, embolia, trombos, torsión vascular o presión que produce un área macroscópica de necrosis. El infarto también se refiere a una región lesionada como un resultado de exposición a una hemorragia.

Por “incrementar el flujo sanguíneo cerebral” se entiende el acto de mejorar el resultado clínico induciendo un aumento estadísticamente o fisiológicamente significativo en el flujo sanguíneo cerebral en un sujeto tratado con relación a un sujeto no tratado como se determina usando técnicas que son bien conocidas en el arte, tales como imágenes vasculares, por ejemplo.

Por “reducir el tamaño de infarto” se entiende el acto de mejorar el resultado clínico induciendo una reducción estadísticamente o fisiológicamente significativa en el tamaño de infarto en un sujeto tratado con relación a un sujeto no tratado como se determina usando técnicas que son bien conocidas en la técnica, tales como imágenes vasculares, por ejemplo.

“Agentes” se definen en el presente documento como compuestos, mezclas, o formulaciones de compuestos que son capaces de prevenir o tratar la isquemia cerebral o la hipoxia, tal como reduciendo el daño neuronal o síntomas de los mismos, asociados con una afección isquémica o hipóxica cerebral y/o daño celular debido a isquemia cerebral o hipoxia. “Mejora” significa la prevención, reducción, paliación, o contra-acción de los aspectos negativos de una afección isquémica o hipóxica o estado isquémico o hipóxico. La mejora no requiere una recuperación completa o prevención completa de la afección isquémica o hipóxica cerebral. Un compuesto o agente puede proporcionar actividad protectora previo a, simultáneamente con, y/o después que el episodio isquémico o hipóxico cerebral ha ocurrido.

Una “composición farmacéutica” es una composición que comprende un agente que es adecuado para la administración a un paciente o sujeto. La composición farmacéutica también puede contener componentes adicionales, tales como excipientes farmacéuticamente aceptables, medios de soporte farmacéuticamente aceptables, y vehículos farmacéuticamente aceptables. Una “composición farmacéutica por prescripción” es una composición que requiere una prescripción del especialista para administración. Una composición farmacéutica puede comprender un compuesto de Fórmula I, tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero. Una “composición nutricional” es una composición que comprende componentes de origen natural, preferentemente que se encuentran en el suministro de alimentos, tales como complementos, alimentos funcionales o ingredientes alimenticios, mezclados en conjunto con un agente tal como un compuesto de Fórmula I, tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona.

Como se usa en el presente documento, se dice que un agente es “citoprotector” o que tiene “propiedad citoprotectora” o “actividad citoprotectora” si la administración de los agentes reduce y/o mejora los síntomas de una afección isquémica o hipóxica cerebral y/o lesión sufrida por células, tejidos, órganos y/o organismos que se inducen secundariamente a la isquemia cerebral o la hipoxia. La actividad citoprotectora y lesión pueden cuantificarse en ensayos que miden los resultados de lesión tales como muerte e inhibición de actividad metabólica; estas pueden medirse, por ejemplo, usando colorantes fluorescentes apropiados, medición de actividad enzimática y/o medición de membrana celular intacta en tejidos afectados tiñendo con indicadores apropiados. Los agentes citoprotectores incluyen tocotrienol quinonas citoprotectoras, metabolitos de las mismas y derivados de las mismas.

Un “sinergista” se define como un agente o compuesto que cuando se presenta da como resultado un aumento mayor que el aditivo, incremento o intensificación del efecto de un agente o compuesto. En algunos casos, puede ser difícil determinar qué compuesto es de importancia primaria en una mezcla y cual es solamente secundario. De este modo, en una mezcla sinérgica de compuestos, cualquiera de los compuestos activos dentro de la mezcla puede considerarse sinergista. Una composición que comprende “actividad sinérgica” o “una mezcla sinérgica” es una combinación de compuestos en donde el efecto combinado es mayor que el aditivo de los efectos individuales. El sinergismo puede ser aparente solamente en algunos intervalos o concentraciones.

Por “cantidad eficaz” o “cantidades eficaces para reducir el daño neuronal asociado a afecciones isquémicas o hipóxicas cerebrales y/o síntomas debidos a isquemia cerebral o hipoxia” significa que el agente o agentes citoprotectores (por ejemplo, tocotrienol quinonas) se administran al paciente en una cantidad suficiente para reducir la lesión asociada a una afección isquémica o hipóxica cerebral y/o síntomas debido a isquemia cerebral o hipoxia, y/o en una cantidad suficiente para proporcionar una concentración final en los tejidos afectados suficiente para reducir la lesión asociada a una afección isquémica o hipóxica cerebral y/o síntomas debidos a isquemia cerebral o hipoxia. Esta cantidad incluye, pero no se limita a, una concentración que actúa como una profilaxis completa o tratamiento para un síntoma de daño neuronal, o que actúa como una profilaxis parcial o tratamiento para un síntoma de daño neuronal. Una “cantidad eficaz” es una cantidad suficiente para efectuar resultados benéficos o deseados. Una cantidad eficaz puede administrarse en una o más administraciones. Para los propósitos de la presente invención, una cantidad eficaz de una composición citoprotectora es una cantidad que es suficiente para

mejorar, estabilizar, invertir, reducir o retardar el progreso de la lesión en sujetos mamíferos i) en riesgo de una afección isquémica o hipóxica cerebral, o ii) asociada a los síntomas de una afección isquémica o hipóxica cerebral. Preferentemente, el alivio de la lesión debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral puede ser cuantificado por una medición de ensayo, por ejemplo, reducción en muerte celular y/o inactividad enzimática; y/o reducción de edema de tejido; y/o reducción en trastorno cognitivo; y/o reducción del tamaño de infarto. En el caso de lesiones asociadas con una afección isquémica o hipóxica cerebral, el tamaño y/o gravedad de un infarto en el cerebro del sujeto puede determinarse, por ejemplo, por varios procedimientos radiológicos no invasivos y/o por varios procedimientos sintomáticos y de diagnóstico conocidos por aquellos expertos en la técnica, tales como imágenes de resonancia magnética (IRM), exploración por tomografía computarizada (TC), tomografía de emisión de positrón (TEP), imágenes ponderadas por difusión (IPD) y similares. Las lesiones asociadas con una afección isquémica o hipóxica cerebral también incluyen cerebral edema y lesiones que se asocian a dicho edema. Cuando se usa con relación a una afección isquémica o hipóxica cerebral, el término "eficaz" cuando describe un tamaño de dosis, frecuencia, o duración, o el concepto de "eficacia" de dosis, se refiere a una dosificación que da como resultado una reducción en el tamaño y gravedad de un infarto cerebral actual, o a una probabilidad de que cualquiera de tales infartos cerebrales, en donde ocurran, puedan ser de tamaño y gravedad reducida. La mejora es preferentemente de al menos aproximadamente el 20 %, preferentemente al menos aproximadamente el 30 %, preferentemente al menos aproximadamente el 50 %, más preferentemente al menos aproximadamente el 70 %, aún más preferentemente al menos aproximadamente el 80 %, y aún más preferentemente al menos aproximadamente el 90 % de reducción en daño neuronal.

"Hipoxia", que se define ampliamente como una afección por la cual una célula, órgano o tejido particular recibe un suministro de oxígeno insuficiente para permitir la función normal. Más específicamente, la hipoxia puede medirse como un nivel de saturación de oxígeno ambiental medio o promedio de menos del 90 % o menos de aproximadamente el 90 %. La hipoxia es un resultado directo de la isquemia, puesto que siempre que el suministro de sangre se corta, el suministro de oxígeno también se corta. Sin embargo, la hipoxia puede ocurrir en otras condiciones, aún si el flujo de sangre permanece inalterado, incluyendo, pero no limitado a, envenenamiento por monóxido de carbono, ahogamiento, asfixia y otras formas de asfixia.

El término "energéticamente competente" se refiere a células, estirpes celulares u organismos que experimentan respiración aeróbica (metabolismo oxidativo). "Incompetencia energética" se refiere a la calidad de células incapaces de experimentar respiración aeróbica; dichas células solamente realizan respiración anaeróbica (fermentación).

Por "tratamiento" o "tratar" se entiende cualquier tratamiento de una enfermedad o trastorno, en un mamífero que inhibe la enfermedad, esto es, mejorando, deteniendo o suprimiendo el desarrollo de síntomas clínicos; y/o mejorando la enfermedad, esto es, provocando la regresión de los síntomas clínicos.

Por "prevención" o "profilaxis" se entiende una pauta que previene o protege frente a la enfermedad o trastorno, esto es, provocando, que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen. La prevención puede ser parcial o completa.

Por "composición de tocotrienol quinona" se entiende una composición que comprende alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona, delta-tocotrienol quinona y/o mezclas de las mismas. El término tocotrienol quinona también incluye estereoisómeros y mezclas de estereoisómeros, sales, formas cristalinas, formas no cristalinas, hidratos o solvatos de los mismos.

Métodos generales

En ciertas realizaciones las formulaciones de la presente invención comprenden tocotrienol quinonas que pueden producirse por síntesis a partir de los tocotrienoles respectivos por oxidación con agentes oxidantes adecuados, como, por ejemplo, nitrato de amonio cérico (CAN). En particular, las formulaciones de la presente invención comprenden alfa-tocotrienol quinona (N.º de Reg. de CAS 1401-66-7) producida por oxidación de alfa-tocotrienol esencialmente puro. Un proceso preferido para la producción de alfa-tocotrienol o alfa-tocotrienol quinona esencialmente pura se ha descrito en la Publicación de Solicitud de Patente De los EE.UU. co-propietaria N.º 2010/0105930 titulada "Proceso para la Producción de Alfa Tocotrienol y Derivados".

Los ejemplos ilustrativos que se proporcionan en el presente documento se refieren a composiciones que comprenden alfa-tocotrienol quinona como el principio activo para su uso como un agente citoprotector frente a daño, lesión y/o síntomas asociados a isquemia cerebral o hipoxia.

Las composiciones de alfa-tocotrienol quinona comprenden alfa-tocotrienol quinona en cantidades eficaces para mejorar la lesión y/o síntomas asociados a isquemia cerebral o hipoxia. Las composiciones de alfa-tocotrienol quinonas pueden ser composiciones enriquecidas que comprenden al menos aproximadamente el 50 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 55 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 60 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 65 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 70 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 75 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 80 % de alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 85 % de

alfa-tocotrienol quinona, al menos aproximadamente el 90 % de alfa-tocotrienol quinona y al menos aproximadamente el 95 % de alfa-tocotrienol quinona.

5 En ejemplos ilustrativos que se desvelan en el presente documento, la composición de alfa-tocotrienol quinona fue capaz de reducir el total tamaño de infarto en un 40 % cuando se administró por sonda nasogástrica a 500 mg/kg al tiempo de MCAO y cuando se administró en la reperusión (véanse el Ejemplo 2 y la FIG. 1, respectivamente).

10 En la presente invención, una composición nutricional comprenderá un compuesto tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero. En realizaciones adicionales, una composición nutricional comprenderá un compuesto tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar a un límite inferior de al menos aproximadamente 1, aproximadamente 1,5, aproximadamente 2, aproximadamente 2,5, aproximadamente 5, aproximadamente 7,5, aproximadamente 10, aproximadamente 12,5, aproximadamente 15, aproximadamente 17,5, aproximadamente 20, aproximadamente 22,25, aproximadamente 25, aproximadamente 30, aproximadamente 35, aproximadamente 40, aproximadamente 45 ó aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero. Una composición farmacéutica comprenderá un compuesto tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero. En realizaciones adicionales, una composición farmacéutica comprenderá un compuesto tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar a un límite inferior de al menos aproximadamente 1, aproximadamente 10, aproximadamente 20, aproximadamente 30, aproximadamente 40, aproximadamente 50, aproximadamente 60, aproximadamente 70, aproximadamente 80, aproximadamente 90, aproximadamente 100, aproximadamente 200, aproximadamente 300, aproximadamente 400, ó aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero. En realizaciones adicionales, una composición farmacéutica comprenderá un compuesto tal como una tocotrienol quinona, tal como alfa-tocotrienol quinona, que se ha de administrar en un intervalo de aproximadamente 5 a aproximadamente 500 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero.

30 *Métodos de uso de los compuestos de la invención*

Las composiciones de la presente invención se administran a un sujeto en cantidades para reducir el daño celular neuronal. El sujeto puede estar experimentando una afección isquémica o hipóxica cerebral, puede estar experimentando síntomas asociados a o debidos a una afección isquémica o hipóxica cerebral o puede estar en riesgo de una afección isquémica o hipóxica cerebral. El sujeto no está siendo tratado para la prevención de una afección isquémica o hipóxica que es resultado de una enfermedad mitocondrial tal como MELAS.

40 En un aspecto, métodos de la presente invención se refieren a prevenir el daño neuronal en un sujeto mamífero en riesgo de desarrollar lesión debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral, es decir, por ejemplo, por un infarto en el cerebro. La reducción del daño neuronal se refiere a minimizar la magnitud y/o gravedad de lesión en el cerebro asociada a o debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral mejorando o reduciendo la lesión que de otro modo podría ocurrir. Se administra una composición de alfa-tocotrienol quinona en algunas realizaciones a un sujeto. La cantidad administrada y la duración del tratamiento son eficaces para minimizar el tamaño y/o gravedad del daño neuronal en el sujeto mamífero como se mide mediante, por ejemplo, reducción en muerte celular neuronal y/o reducción en edema de tejido asociado a una afección isquémica o hipóxica cerebral y/o reducción en trastorno cognitivo y/o reducción en tamaño de infarto. De este modo, se anticipa que como un resultado de dicho tratamiento el tamaño y/o gravedad de cualquier daño neuronal que se desarrolla se minimiza.

50 La composición se usa en tratamientos profilácticos para daño neuronal que incluyen muerte celular y/o presencia de edema de tejido y/o disfunción cognitiva y/o infartos cerebrales que pueden ser debido a episodios isquémicos, hipóxicos/anóxicos o hemorrágicos. Las composiciones de la presente invención se administran a un sujeto en riesgo de experimentar daño neuronal asociado o debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral, y prevenir o mejorar la gravedad del daño, si es que se produce. La composición se dirige a un sujeto en riesgo de daño neuronal que se asocia a, o que es resultado de, una afección médica aguda o crónica. Dichas afecciones podrían originarse como un resultado de tratamiento médico o quirúrgico planeado por el sujeto (por ejemplo, angioplastia) o como un resultado de una afección médica emergente tal como un ictus o pérdida de sangre grave. Otras afecciones que ponen a un sujeto en riesgo de daño neuronal asociado a una afección isquémica cerebral incluyen una predisposición genética al ictus o una afección que se entiende incrementa la probabilidad de incurrir en un infarto cerebral tal como aterosclerosis, previo a ictus o ataques isquémicos temporales, diabetes mellitus, hipertensión, hipercolesterolemia, un historial de tabaquismo y también puede incluir esquizofrenia, epilepsia y trastornos neurodegenerativos. El diagnóstico y/o caracterización patológica de víctimas de ictus ha identificado numerosas afecciones médicas adicionales que producen ictus que son ampliamente conocidas por practicantes de medicina interna y neurológica.

65 Las afecciones médicas adicionales que ponen a un sujeto en riesgo de daño neuronal asociado a o debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral incluyen, pero no se limitan a, vasculitis (que incluye enfermedad vascular del colágeno, temporal (células gigantes) arteritis, poliarteritis nodosa, granulomatosis de Wegener, arteritis de

Takayasu, y vasculitis asociada a sífilis); meningitis (que incluye, pero no se limita a, meningitis causada por tuberculosis, hongos, sífilis, bacterias, o herpes, que incluye herpes zoster); disección arterial (por ejemplo, arterias carótidas, vertebrales o intracraneales en la base del cerebro); trastornos hematológicos (que incluyen pero no se limitan a, policitemia, trombocitosis, trombosis, trombocitopenia púrpura, coagulación intravascular diseminada, disproteinemias, y hemoglobinopatías (tal como enfermedad de células falsiformes)); daño vascular inducido por cocaína o anfetaminas; enfermedad de moyamoya; displasia fibromuscular; enfermedad de Binswanger; embolia (que incluye fuentes cardíacas, por ejemplo, disritmia, enfermedad cardíaca coronaria, enfermedad cardíaca reumática, etc.); injerto de derivación de arteria coronaria (CABG, por sus siglas en inglés), y fuentes arteriales aterotrombóticas (que incluyen pero no se limitan a bifurcación de arteria carótida común, sifón carótido, arteria vertebral distal, y arco aórtico).

Otras afecciones médicas que ponen a un sujeto en riesgo de daño neuronal asociado a o debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral incluyen, pero no se limitan a afecciones asociadas a un estado hipercoagulable secundario a enfermedad sistémica; carcinoma (especialmente pancreático); eclampsia; anticonceptivos orales; lupus; enfermedades trombóticas tales como deficiencia del factor C o S y mutación del Factor V tal como Factor V Leiden; vasoconstricción, que incluye vasoespasmo (por ejemplo, vasoespasmo cerebral después de hemorragia subaracnoide) y vasoconstricción cerebral reversible (por ejemplo, idiopática, migraña, eclampsia, traumatismo); y afecciones venosas (que incluyen deshidratación, infección pancranial, postparto y estados postoperatorios y cáncer sistémico).

Las afecciones médicas que ponen a un sujeto en riesgo de daño neuronal asociado a o debido a una afección isquémica o hipóxica cerebral debido a hemorragia intracraneal incluyen, pero no se limitan a, hemorragia intracerebral espontánea (por ejemplo, hipertensiva, angiopatía amiloide); rotura de aneurisma (por ejemplo, sacular, micótico); rotura de malformación arteriovenosa; uso de fármaco (por ejemplo, cocaína, anfetaminas); traumatismo; sangrado con tumores cerebrales; trastornos de sangrado sistémico (que incluyen terapia anticoagulación) e infarto hemorrágico.

La presente invención proporciona tratamientos para sujetos mamíferos humanos y no humanos. Un mamífero no humano se identifica como un sujeto si el animal está siendo sometido a procedimientos que inducen afección isquémica o hipóxica cerebral y conducen a, por ejemplo, un infarto cerebral, o está sufriendo procedimientos quirúrgicos o invasivos comparables con aquellos identificados en el párrafo precedente para sujetos humanos.

En la presente invención, la composición de tocotrienol quinona se administra a un sujeto mamífero. En el caso en el que un individuo ha sido diagnosticado como que ha padecido un episodio isquémico, tal como un ictus o un resultado de sofocación, la administración de una composición de la presente invención debe iniciarse tan pronto como sea posible después que el episodio isquémico haya ocurrido, preferentemente en el plazo de algunos días (por ejemplo, en el plazo de aproximadamente 1, aproximadamente 2 o aproximadamente 3 días), o más preferentemente en el plazo de algunas horas (por ejemplo, menos de aproximadamente 12 horas, menos de aproximadamente 8 horas, menos de aproximadamente 6 horas, menos de aproximadamente 4 horas, menos de aproximadamente 2 horas, o menos de aproximadamente 1 hora) del episodio. En el caso en el que un individuo está en riesgo de desarrollar un infarto como un resultado de inminente intervención quirúrgica o similar o está de otro modo en riesgo de infarto, la administración de las composiciones de la presente invención preferentemente comienza tan pronto como se toma la decisión que planea la intervención o se identifica el riesgo. En cualquier caso, la duración del tratamiento es de algunos días, varios días, o algunas semanas, determinada por el marco de tiempo en el que se entiende, o se espera que se produzca la lesión isquémica.

El tamaño de la dosis de la composición de tocotrienol quinona que se ha de administrar depende de la vía de administración y la condición médica del sujeto, así como también otros parámetros individuales del sujeto tales como edad, tamaño y peso. La administración de la composición a un individuo que ha sufrido un episodio isquémico representa la situación más aguda de entre las consideradas en la presente invención, puesto que el episodio isquémico ya ha ocurrido y la necesidad de minimización inmediata de la lesión del infarto es extrema. Esto puede necesitar un tamaño particular de dosis apropiada para las circunstancias. Un sujeto humano o animal no humano programado para cirugía inminente o intervención médica está en un estado médico algo menos agudo. Como un resultado del tamaño de cada dosis puede ser diferente, y puede estar abierto a alguna variación mayor y todavía estar dentro de la práctica de la invención. En general, los tamaños de cada dosis para su administración se describen en el presente documento. Los tamaños de dosis para mamíferos no humanos en general caen en el mismo intervalo en mg/kg.

Por las razones recién resumidas, la frecuencia de dosificación también puede variar. Un estado médico más agudo puede sugerir una pauta de dosificación diferente que uno que es algo menos agudo. En general, la invención puede ponerse en práctica administrando dosis a una frecuencia que varía de aproximadamente una vez o dos veces por semana a aproximadamente una vez, dos veces, tres veces, o cuatro veces a diario, o administrando dosis a través de una infusión continua.

Análogamente por las razones dadas anteriormente, la duración de dosificación es sometida a variabilidad. Por ejemplo, una víctima de ictus, estando en una condición médica extremadamente aguda, requiere que el efecto del

método de la invención se produzca tan pronto como sea posible. Esto claramente dicta un curso de dosificación que enfatiza una duración corta. Un sujeto que se enfrente a una cirugía o intervención médica programada, o está de otro modo en riesgo de un ictus, que tiene un estado médico menos agudo, puede someterse a una dosificación con una duración diferente, en general más larga. En general, a una víctima de ictus se le puede administrar la composición con una duración que varía de aproximadamente 3 días a aproximadamente 10 días. Por otro lado, un sujeto quien está próximo a someterse a un tratamiento médico o quirúrgico que potencia el riesgo de una afección isquémica o hipóxica cerebral en el cerebro puede someterse a dosificación por una duración que varía de aproximadamente 5 días a aproximadamente 14 días antes de la intervención. Un sujeto quien está en riesgo de desarrollar un infarto cerebral asociado a una afección médica crónica tal como una predisposición genética a ictus, diabetes mellitus, hipertensión, hipercolesterolemia, y un historial de tabaquismo puede tratarse preventivamente por una duración prolongada.

Las composiciones de la invención se administran en una cantidad eficaz. Con respecto a una afección isquémica o hipóxica cerebral, una cantidad eficaz es una suficiente para reducir el daño neuronal que es resultado de la afección isquémica o hipóxica cerebral. Una reducción de daño neuronal es cualquier prevención de lesión al cerebro que de otro modo podría haber ocurrido en un sujeto que experimenta un episodio isquémico cerebral o hipoxia ausente del tratamiento de la invención. Se pueden usar varios parámetros fisiológicos para valorar la reducción de lesión cerebral, que incluyen, pero no se limitan a, tamaño de infarto más pequeño, flujo sanguíneo regional cerebral y presión intracraneal reducida, por ejemplo, comparada con parámetros de pretratamiento del paciente, pacientes isquémicos o hipóxicos cerebrales no tratados o pacientes isquémicos o hipóxicos cerebrales que reciben un control solo. El tamaño de un infarto en un paciente humano que ha padecido un ictus puede determinarse, por ejemplo, por diversos procedimientos radiológicos no invasivos conocidos por los expertos en el campo de medicina, especialmente por aquellos de habilidad en radiología y neurología. Los ejemplos de métodos disponibles en el campo incluyen, pero no se limitan a, exploración por tomografía computarizada (TC), imagen de resonancia magnética (IRM), tomografía de emisión de positrón (TEP), formación de imágenes ponderadas por difusión (IPD), imágenes ultrasónicas, e imágenes radioindicadoras dirigidas.

La gravedad de un infarto en un paciente humano que ha padecido un ictus puede determinarse, por ejemplo, por diversos procedimientos de diagnóstico y sintomáticos conocidos por los expertos en los campos de medicina, especialmente por los expertos en neurología, hematología y medicina física, además de valorar los resultados de diagnosis radiológica y anatómica que se analizaron en el párrafo anterior. El comportamiento cinético, sensorial y cognitivo se ve afectado en pacientes con ictus. La diagnosis médica rutinaria incluye dichas valoraciones en el análisis del estado de víctimas de ictus. Por ejemplo, la eficacia de las diversas dosis de las composiciones reivindicadas puede evaluarse usando mediciones convencionales conocidas en la técnica que incluyen, pero no se limitan a, al Índice Barthel, Registro de Clasificación Modificado, Escala Total de Ictus NIH, punto motor de Escala de Ictus NIH, el número de días a alta del hospital, mortalidad y otras puntuaciones de batería neuropsicológica.

Además, los pacientes con ictus pueden diagnosticarse por los métodos de hematología. Estos pueden ser usados para valorar las poblaciones y características celulares de células inmunes en la circulación, así como también diversas actividades enzimáticas o componentes celulares del tejido cerebral. Estas actividades o componentes en general se encuentran en la sangre de víctimas de ictus, pero están normalmente ausentes o presentes a solamente niveles bajos en sujetos que no han padecido un ictus. Pueden aplicarse procedimientos similares a mamíferos no humanos quienes han padecido lesión isquémica o hipóxica como un resultado de procedimientos médicos o quirúrgicos. Las cantidades o valores de los varios resultados obtenidos en estos ensayos diagnósticos pueden evaluarse con respecto a valores conocidos en los diversos campos para representar estados normales o patológicos. Como un resultado de evaluación del grupo de resultados diagnósticos obtenidos como se ha esbozado anteriormente, la gravedad del infarto se puede valorar por expertos en los campos médicos. El tamaño de dosis, frecuencia, y la duración del tratamiento por el método de la presente invención se puede ajustar en consecuencia basándose en la gravedad del infarto y la condición médica general del paciente.

Las composiciones, como se ha descrito anteriormente, pueden prepararse como una preparación medicinal o en diversos otros medios, tales como alimentos para seres humanos o mamíferos, que incluyen alimentos médicos y complementos dietéticos. Un "alimento médico" es un producto que tiene por objeto el tratamiento dietético específico de una enfermedad o afección para la que existen requerimientos nutricionales distintivos. A modo de ejemplo, pero sin limitación, alimentos médicos pueden incluir formulaciones de vitaminas y minerales alimentadas a través de una sonda a víctimas de cáncer o quemaduras (referido como administración entérica o administración por sonda nasogástrica). Un "complemento dietético" es un producto que tiene por objeto complementar la dieta humana y normalmente se proporciona en forma de una píldora, cápsula, comprimido, o formulación similar. A modo de ejemplo, pero sin limitación, un complemento dietético puede incluir uno o más de los siguientes ingredientes: vitaminas, minerales, hierbas, botánicas; aminoácidos, sustancias de dieta propuestas para suplementar la dieta incrementando la ingesta de dieta, y concentrados, metabolitos, constituyentes, extractos o combinaciones de cualquiera de los anteriores. Los complementos dietéticos pueden también incorporarse en el alimento, que incluyen, pero no se limitan a, barras alimenticias, bebidas, polvos, cereales, alimentos cocinados, aditivos alimenticios y dulces; u otros alimentos funcionales diseñados para promover la salud cerebral o prevenir la isquemia cerebral o hipoxia. Para los animales, las composiciones pueden incorporarse en el alimento animal primario. Si se administra como una preparación medicinal, la composición puede administrarse, ya sea como una

profilaxis o tratamiento, a un paciente en cualquiera de un número de métodos. Las composiciones de tocotrienol quinonas pueden administrarse solas o en combinación con otros agentes farmacéuticos y pueden combinarse con un medio de soporte fisiológicamente aceptable de las mismas. En algunas realizaciones, la composición de tocotrienol quinona adicionalmente comprende un medio de soporte farmacéuticamente aceptable. La cantidad eficaz y método de administración de la formulación citoprotectora particular puede variar basándose en el sujeto individual, la etapa de enfermedad y otros factores evidentes para un experto en la materia. Durante el curso del tratamiento, la concentración de las composiciones objeto puede controlarse para garantizar que se mantiene el nivel deseado. Las composiciones objeto pueden formar compuestos con otros materiales fisiológicamente aceptables que puedan ingerirse que incluyen, pero no se limitan a, alimentos.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden formularse como composiciones farmacéuticas por formulación con aditivos tales como excipientes farmacéuticamente aceptables, medios de soporte farmacéuticamente aceptables, y vehículos farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables, medios de soporte y vehículos adecuados incluyen agentes de procesamiento y modificadores de administración de fármaco e intensificadores, tales como, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, dextrosa, hidroxipropil-beta-ciclodextrina, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión, resinas de intercambio iónico, y similares, así como también combinaciones de cualquiera de dos o más de los mismos. Otros excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados se describen en "*Remington's Pharmaceutical Sciences*", Mack Pub. Co., Nueva Jersey (1991), y "*Remington: The Science and Practice of Pharmacy*", Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 20ª edición (2003) y 21ª edición (2005), incorporada en el presente documento por referencia.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración propuesto, que incluyen, por ejemplo, una solución, una suspensión, o una emulsión. Normalmente se usan medios de soporte líquidos en la preparación de soluciones, suspensiones, y emulsiones. Los medios de soporte líquidos contemplados para su uso en la práctica de la presente invención incluyen, por ejemplo, agua, salina, disolventes orgánicos farmacéuticamente aceptables, aceites o grasas farmacéuticamente aceptables, y similares, así como también mezclas de dos o más de los mismos. El medio de soporte líquido puede contener otros aditivos farmacéuticamente aceptables adecuados tales como solubilizadores, emulsionantes, nutrientes, tampones, conservantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, reguladores de viscosidad, estabilizadores, y similares. Los disolventes orgánicos adecuados incluyen, por ejemplo, alcoholes monohídricos, tales como etanol, y alcoholes polihídricos, tales como glicoles. Los aceites adecuados incluyen, por ejemplo, aceite de sésamo, aceite de soja, aceite de coco, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón y similares. Para la administración parenteral, el medio de soporte también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo, miristato de isopropilo, y similares. Las composiciones de la presente invención también pueden estar en forma de micropartículas, microcápsulas, encapsulados liposómicos, y similares, así como también combinaciones de cualquiera dos o más de los mismos.

Pueden usarse sistemas de administración de liberación controlada o liberación temporizada, tales como un sistema de matriz controlada por difusión o un sistema erosionable, como se describen por ejemplo en: Lee, "*Diffusion-Controlled Matrix Systems*", págs. 155-198 y Ron y Langer, "*Erodible Systems*", págs. 199-224, en "*Treatise on Controlled Drug Delivery*", A. Kydonieus Ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York 1992. La matriz puede ser, por ejemplo, un material biodegradable que puede degradarse espontáneamente *in situ* e *in vivo*, por ejemplo, por hidrólisis o escisión enzimática, por ejemplo, por proteasas. El sistema de administración puede ser, por ejemplo, un polímero o copolímero sintético de origen natural, por ejemplo, en forma de un hidrogel. Los polímeros de ejemplo con enlaces escindibles incluyen poliésteres, polioctoésteres, polianhídridos, polisacáridos, poli(fosfoésteres), poliamidas, poliuretanos, poli(imidocarbonatos) y poli(fosfacenos).

Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía enteral, por vía oral, por vía parenteral, por vía sublingual, por inhalación (por ejemplo, como neblinas o atomizadores), por vía rectal, o por vía tópica en formulaciones de unidad de dosificación que contienen medios de soporte no tóxicos convencionales farmacéuticos aceptables, adyuvantes, y vehículos como se desee. Por ejemplo, modos adecuados de administración incluyen oral, subcutánea, transdermal, transmucosal, iontoforética, intravenosa, intraarterial, intramuscular, intraperitoneal, intranasal (por ejemplo, a través de la mucosa nasal), subdural, rectal, gastrointestinal, y similares, y directamente a un tejido u órgano afectado o específico. Para la administración al sistema nervioso central, se pueden usar administración espinal y epidural, o la administración en los ventrículos cerebrales. La administración tópica puede involucrar también el uso de administración transdérmica tal como parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. El término parenteral como se usa en la presente incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular, intrasternal o técnicas de infusión. Los compuestos se mezclan con medios de soporte farmacéuticamente aceptables, adyuvantes y vehículos apropiados para la vía deseada de administración. La administración oral es una vía de administración preferida, y son formulaciones preferidas las formulaciones adecuadas para administración oral. Las composiciones descritas para su uso en el presente documento pueden administrarse en forma sólida, en forma líquida, en forma de aerosol, o en forma de comprimidos, píldoras, mezclas en polvo, cápsulas, gránulos, inyectables, cremas, soluciones, supositorios, enemas, irrigaciones colónicas, emulsiones, dispersiones, premezclas de alimento y en otras formas adecuadas. Los compuestos también pueden administrarse en formulaciones de liposomas. Métodos adicionales de administración se conocen en la técnica.

Pueden formularse preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables estériles, de acuerdo con la técnica conocida usando agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en polipropilenglicol.

5 Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución Ringer, y solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites no volátiles, estériles, como un medio de suspensión o disolvente. Para este propósito, puede emplearse cualquier aceite no volátil suave, que incluye mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

10 Pueden prepararse supositorios para la administración rectal del fármaco mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado, tal como manteca de cacao y polietilenglicoles que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura rectal y por lo tanto se derretirán en el recto y liberarán el fármaco.

15 Las formas de dosificación sólidas para la administración oral pueden incluir cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa, o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, agentes lubricantes tales como estearato de magnesio. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Los comprimidos y píldoras pueden adicionalmente ser preparadas con recubrimientos entéricos.

20 Las formas de dosificación líquida para la administración oral pueden incluir emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables, que contienen diluyentes habitualmente usados en la técnica, tales como agua. Dichas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes emulsificantes y de suspensión, ciclodextrinas, y endulzantes, saborizantes y agentes perfumantes.

25 Las composiciones de la presente invención también pueden administrarse en la forma de liposomas. Como se conoce en la técnica, los liposomas son en general derivadas de fosfolípidos u otras sustancias lipídicas. Los liposomas se forman por cristales líquidos hidratados mono o multilaminares que están dispersos en un medio acuoso. Se puede usar cualquier líquido fisiológicamente aceptable y metabolizado no tóxico, para formar liposomas. Las presentes composiciones en forma de liposomas pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, estabilizadores, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y fosfatidilcolinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticas. Los métodos para formar liposomas se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volumen XIV, Academic Press, Nueva York, N.W., pág. 33 y siguientes (1976).

30 Para la administración, las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Dichos métodos incluyen la etapa de asociar los principios activos con el medio de soporte que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando uniformemente e íntimamente los principios activos con medios de soporte líquidos o medios de soporte sólidos finamente divididos o ambos, y después si es necesario se conforma el producto. La invención también proporciona artículos de fabricación y kits que contienen materiales útiles para tratar o suprimir una afección isquémica o hipóxica cerebral. El artículo de fabricación comprende un contenedor con una etiqueta. Los contenedores adecuados incluyen, por ejemplo, botellas, viales y tubos de ensayo. Los contenedores pueden estar hechos de diversos materiales tales como vidrio o plástico. El contenedor retiene una composición que tiene un agente activo que es eficaz para tratar o suprimir una afección isquémica o hipóxica cerebral. El agente activo en la composición es uno o más de los compuestos de la presente invención. La etiqueta en el contenedor indica que la composición se usa para tratar o suprimir una afección isquémica o hipóxica cerebral, por ejemplo, ictus, y también puede indicar directrices para su uso ya sea *in vivo* o *in vitro*.

35 Los kits pueden comprender uno cualquiera o más de los compuestos de la presente invención. En algunas realizaciones, el kit de la invención comprende el contenedor descrito anteriormente. En otras realizaciones, el kit de la invención comprende el contenedor descrito anteriormente y un segundo contenedor que comprende un tampón. Puede además incluir otros materiales deseables de un punto de vista del usuario y comercial, que incluye otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones para realizar cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento.

40 En otros aspectos, los kits pueden usarse para cualquiera de los métodos que se describen en el presente documento, que incluyen, por ejemplo, para tratar un individuo con una afección isquémica o hipóxica cerebral tal como ictus, o para suprimir una afección isquémica o hipóxica cerebral tal como ictus en un individuo.

45 La cantidad de la composición ingerida, consumida o administrada de otro modo dependerá de la concentración final deseada. Normalmente, la cantidad de una administración única de la composición de la invención puede ser de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg por dosis, o aproximadamente 200 mg a aproximadamente

1500 mg por día. Cualquiera de estas dosis puede ser además subdividida en administraciones separadas, y se pueden proporcionar dosificaciones múltiples a cualquier paciente individual.

5 Las composiciones mencionadas anteriormente y los métodos de administración tienen por objeto describir, pero no limitar las composiciones de la presente invención. Los métodos de producción de diversas composiciones y dispositivos están dentro de la capacidad de un experto en la materia y no se describen en detalle en el presente documento.

10 Se proporcionan diversos ensayos, composiciones y métodos útiles para identificar composiciones y métodos para reducir el daño neuronal en los Ejemplos. Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar, pero no limitar, la invención.

Ejemplos

15 Ejemplo 1

Ensayos en células para determinar la capacidad de una composición para contrarrestar la lesión celular neuronal inducida isquémica y muerte celular.

20 Las lesiones al cerebro que interrumpen su suministro de sangre, como en isquemia, o su suministro de oxígeno, como en hipoxia (oxígeno bajo) o anoxia (oxígeno cero), rápidamente causan desequilibrio neuronal conduciendo a la muerte celular (Flynn et al. (1989) *Ischemia and Hypoxia*, págs. 783-810, en: *Basic Neurochemistry*, Siegel et al. (Eds.), Raven Press, Nueva York). Las lesiones isquémicas cerebrales se modelan en animales ocluyendo vasos en, o dentro del, cráneo (Molinari (1986) *Experimental models of ischemic stroke*, págs. 57-73, en: *Stroke: Pathophysiology, Diagnosis and Management*, Vol. 1, Barnett et al. (Eds.), Churchill Livingstone, N.Y.). Los modelos in vitro de isquemia usan diferentes medios de privación de glucosa y oxígeno, por ejemplo, colocando cultivos neuronales en cámaras hipóxicas y anaeróbicas grandes e intercambiando el medio de cultivo con un medio de composición iónica definida y sin oxígeno (Goldberg et al., (1990) *Stroke* 21: 75-77). La sobreestimulación tóxica de receptores de glutamato neuronal, especialmente receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA), contribuyen a lesión neuronal hipóxica-isquémica (Choi (1988) *Neuron* 1: 623-634), *ischemic induction of reactive oxygen species (ROS)* (Watson et al., (1988) *Ann. NY Acad. Sci.* 59: 269-281), flujo de entrada de calcio excesivo (Grotta et al., (1988) *Stroke* 19: 447-454), aumento de ácido araquidónico (Siesjo (1981) *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1: 155-185), y daño de ADN (MacManus et al., (1993) *Neurosci. Lett.* 164: 89-92), provocando una cascada de neurodegeneración.

35 Entre diversos tipos de cultivos neuronales primarios, el cultivo neuronal de hipocampo embrionario primario se usa ampliamente por varias razones. El hipocampo es una fuente de una población relativamente homogénea de neuronas con propiedades bien caracterizadas típicas de neuronas del sistema nervioso central (SNC) en general. Se ha estimado que las neuronas piramidales, el principal tipo celular en el hipocampo, suponen del 85 % al 90 % de la población neuronal total (Banker et al., (1998) *Culturing Nerve Cells*, 2ª edición, The MIT Press, Cambridge, Mass.). Además, el hipocampo presenta una capacidad notable de cambios dependientes de la actividad en la función sináptica, tales como potenciación a largo plazo (Hawkins et al., (1993) *Annu. Rev. Neurosci.* 16: 625-665).

45 Los cultivos de hipocampus normalmente se preparan a partir de ratas fetales de 18 a 19 días. En esta edad, la generación de neuronas piramidales, que comienza en la rata a aproximadamente E15, es en general completa. El tejido se disocia fácilmente, las meninges se retiran rápidamente y el número de células gliales todavía es relativamente modesto (Park et al., (2000) *J Neurochem* 74: 114-124).

Cultivo celular primario

50 El siguiente protocolo describe el procedimiento usado para aislar y cultivar células neuronales hipocampales primarias de cerebro de rata embrionaria para su uso en los ensayos en células descritos en el presente documento.

Antes del aislamiento de las células, pipetas Pasteur de punta larga con una apertura de 1 mm, 0,4- 0,5 mm, y 0,25 mm se pulieron por fuego, se limpiaron con etanol al 70 %, se siliconaron (Sigmacote, Sigma Chemical N.º del Cat. SL-2) y sometieron a autoclave. Todos los otros instrumentos para disección se sumergieron en etanol al 70 % al menos 2 h antes de la disección. También antes del aislamiento celular, los matraces de cultivo (T75 cm²) y plaquetas se revestieron con poli-D-lisina (Sigma Chemical, N.º del Cat. P-6407). Para el revestimiento, se añadieron 50 µg/ml de poli-D-lisina al matraz o placa (5 ml por T75 cm² de matraz y 50 µl/pocillo en una placa de 96 pocillos) durante una hora. El matraz o placa después se lavó dos veces con agua estéril, agua destilada y se dejó secar en aire en una campana de cultivo durante una hora antes de su uso. Se preparó HBSS (sin Ca-Mg) como se indica a continuación: 10,0 ml 10xHBSS (Hank's CMF-Gibco n.º 310-4180), 3,3 ml 0,3 M de HEPES, pH 7,3, 10 ml de bicarbonato de sodio al 0,35 %, 1,0 ml de Penicilina/Estreptomina (100x) y 1,0 ml 100 mM de piruvato se mezclaron con 74,7 ml de H₂O para hacer 100 ml de la solución.

65 Una rata preñada (E18-E19) se sacrificó con CO₂, y se le retiró el útero. Los embriones se retiraron del saco, se precipitaron y se retiraron sus cerebros. Los cerebros se sumergieron en BSS frío (4 °C) (sin Ca/Mg) en una placa de

Petri pequeña. Se cubrió una placa (100-mm) con parafina para hacer una mejor superficie para la disección. Los hipocampos se retiraron de los cerebros bajo un microscopio de disección y se colocaron en la placa cubierta de parafina. Las meninges se retiraron y los hipocampos disecados se recogieron en placas de Petri pequeñas en HBSS (sin Ca/Mg).

5 Los hipocampos de una camada se colocaron en un tubo de centrifuga de 15 ml (en general 10-12 cerebros/camada), y el tubo se llenó con HBSS (sin Ca/Mg). Después de la centrifugación a 1000 rpm durante 2 minutos usando la centrifuga de mesa, se retiró el sobrenadante. Se añadieron 2 ml de HBSS (Ca/Mg libre) a cada tubo y el tejido se trituró 2 veces con una pipeta siliconada de punta larga con los tres diferentes tamaños de
10 abertura (total de 6-7 veces). La trituración se inició con una pipeta con un tamaño de abertura normal, y después más pequeña (la mitad del tamaño), después una con agujero más pequeño. Después de la centrifugación a 1000 rpm durante 2 minutos, el sobrenadante se desechó y se añadieron 2 ml de Neurobasal/B27i (con antibióticos) a cada tubo. Medio Neurobasal que contenía medio Neurobasal/B27i (Life Technologies Cat No. 21103-049) con
15 suplemento 1xB27 (Life Technologies Cat No. 17504-044), L-glutamina 0,5 μ M, ácido L-glutámico 25 μ M y 1xPenicilina/Estreptomina. Las células se trituraron 1 vez con una pipeta siliconada de punta larga con tres diferentes tamaños de abertura. La trituración se inició con una pipeta con un tamaño de abertura normal, después una más pequeña (la mitad del tamaño) y finalmente una con el agujero más pequeño. Se determinó la densidad celular en un hemocitómetro usando el método de exclusión con azul tripano. Se mezcló una solución base de azul tripano al 0,4 % en NaCl al 0,9 % uno a uno con unaa pocas gotas de la suspensión celular, y se dejó reposar
20 durante 4 minutos antes de cuantificar la fracción de las células excluidas del colorante. Un rendimiento normal es 3×10^5 - 6×10^5 células/cerebro.

Se añadió el número deseable de células viables a placas de 12 pocillos recubiertas con poli-D-lisina, matraces o
25 discos de cultivo MetTek en Neurobasal/B27i, y se incubaron en atmósfera de aire con CO₂ al 5 % a 37 °C. Las células generalmente se siembran a una densidad de $1,5 \times 10^6$ células por matraz de T75 cm² y a una densidad de aproximadamente 100.000 células por pocillo de una placa de 12 pocillos. Cada matraz de T75 cm² recibió 15 ml del medio y cada pocillo de una placa de 12 pocillos recibió 1 ml del medio.

Después de tres o cuatro días en cultivo, la mitad del medio se retiró de cada pocillo o matraz, y se añadió una
30 cantidad igual de medio Neurobasal/B27m fresco (medio Neurobasal con suplemento 1xB27, L-glutamina 0,5 μ M), que contiene citosina arabinosida 5 μ M (AraC). Después de siete a ocho días del cultivo inicial, se retiró la mitad del medio de cada pocillo o matraz, y se añadió una cantidad igual de medio Neurobasal/B27m (sin Ara-C).

Ensayo de lesión celular

35 En el siguiente ensayo, se induce isquemia por anoxia-reoxigenación en células neuronales del hipocampo cultivadas y se accede a agentes de ensayo por su potencia y/o eficacia frente a lesión celular neuronal inducida isquémicamente y muerte celular. El protocolo de ensayo se esquematizó como se indica a continuación:

40 Se prepararon células neuronales del hipocampo primario y colocaron en placas de 12 pocillos recubiertas con poli-D-lisina como se ha descrito anteriormente. Las células se cultivaron durante 10-11 días como se ha descrito anteriormente.

45 Se preequilibraron 100 ml de medio LoG-Neurobasal en un matraz T150 cm² en la cámara hipóxica durante la noche y se preequilibraron 20 ml de medio LoG-Neurobasal en un matraz T75 cm² en una incubadora convencional (5 % de CO₂) durante la noche. El medio NoG-Neurobasal contenía medio LoG-Neurobasal (sin glucosa)(Life Technologies, orden de encargo) más glucosa 0,5 mM, L-glutamina 0,5 mM y 0,25x Penicilina/Estreptomina. Se preequilibraron 100 ml de medio Neurobasal/B27AO en un T150 cm² en una incubadora convencional (5 % de CO₂) durante la noche. El medio Neurobasal contenía medio Neurobasal/B27AO (Life Technologies, N.º del Cat. 21103-049) con suplemento 2xB27 menos AO (Life Technologies, N.º del Cat. 10889-038), L-glutamina 0,5 mM y 0,25x Penicilina/Estreptomina.

50 Los 100 ml de LoG-Neurobasal equilibrados en matraz T150 cm² se retiraron de la cámara hipóxica, y el medio se burbujeó ligeramente con 100 % de N₂ durante 30 minutos para que se desoxigenase completamente. El medio de cultivo existente (Neurobasal/B27m) se aspiró de las células cultivadas en cada placa de 12 pocillos usando la bomba de vacío con una pipeta Pasteur de vidrio estéril unida. Las células se lavaron una vez con 2 ml de BSS₀ sin glucosa (pH 7,4). BSS₀ sin glucosa (pH 7,4) contenía NaCl 143,6 mM, KCl 5,4 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgSO₄ 0,8 mM, NaH₂PO₄ 1 mM, NaHCO₃ 26,2 mM, 10 mg/l de rojo fenol y 0,25x Penicilina/Estreptomina.

60 Las neuronas cultivadas (10-11 días después del cultivo inicial) se recargaron con LoG-Neurobasal desoxigenado (1 ml por pocillo para cada pocillo de la placa de 12 pocillos). Se añadieron los agentes de ensayo a cada pocillo (por lo general 3 concentraciones del compuesto más control positivo, cada uno por triplicado). Generalmente, los agentes de ensayo se disolvieron en 100 % de DMSO. Para reducir el efecto de DMSO en las células, se añadieron compuestos muy concentrados en una cantidad pequeña (normalmente 200 x concentración). La concentración de
65 DMSO en el cultivo no superó el 0,5 %.

La placa se colocó, con sus tapas entre abiertas, en la cámara anaeróbica durante 5 horas. Para los controles de normoxia, se añadió medio LoG-Neurobasal normóxico preequilibrado a cada pocillo y la placa se volvió a colocar en la incubadora convencional (5 % de CO₂) durante 5 horas. Después de 5 horas de hipoxia, el medio cultivado cuidadosamente se aspiró y se le añadieron 2 ml de Neurobasal/B27AO oxigenado nuevo (preequilibrado) a cada pocillo. Se consiguió medio reoxigenado colocando medio durante la noche en la incubadora de cultivo. Los mismos agentes de ensayo con las mismas concentraciones se añadieron nuevamente en los pocillos correspondientes. Las placas se colocaron en la incubadora de cultivo celular y se reoxigenaron durante 20-24 horas. Después de la reoxigenación durante 20-24 horas, se cuantificó el número de neuronas vivas usando el método de fluorescencia verde rastreadora celular como se indica a continuación. Se aspiró el medio de cultivo de cada pocillo de las placas de 12 pocillos y las neuronas se lavaron una vez con 2 ml de HBSS (precalentado a 30-37 °C); HEES 25 mM, NaCl 100 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1,2 mM, CaCl₂ 1,3 mM, KH₂PO₄ 1,0 mM, pH 7,4, filtro esterilizado). Se añadió 1 ml de colorante fluorescente Verde Rastreador Celular 5 µM (Molecular Probes, N.º del Cat. 2925) disuelto en HBSS a las células y las placas se colocaron en la oscuridad a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de lavar las neuronas una vez con 2 ml de HBSS, se añadió 1 ml de HBSS a cada pocillo, y se cuantificaron las células fluorescentes usando el microscopio fluorescente.

Ejemplo 2

Ensayo de infarto cerebral animal

El presente ensayo se usó para valorar la eficacia de los agentes de ensayo para proteger el cerebro frente a la necrosis después de isquemia cerebral o hipoxia inducida en ratas. La Oclusión de Arteria Cerebral Media (MCAO) es una técnica ampliamente usada para inducir isquemia cerebral o hipoxia focal temporal en modelos animales. Se ha demostrado que el modelo de rata de MCAO es una aproximación apropiada de daño isquémico en humanos. Además, este modelo exactamente representa la participación de la arteria cerebral media (MCA), el vaso más afectado en el ictus humano, y también permite la reperfusión como sucede en humanos.

Oclusión de arteria cerebral media (MCAO)

A ratas Sprague-Dawley machos (Hada, Ind.) que pesaban 225-250 g se les permitió libre acceso al agua y alimento para roedor comercial en condiciones de laboratorio convencionales. La temperatura ambiente se mantuvo a 20-23 °C y la iluminación ambiental fue un ciclo de luz/oscuridad 12/12 horas. Las ratas se aclimataron al ambiente de laboratorio 5 a 7 días antes del estudio.

Antes de la cirugía, los animales no se alimentaron y no tuvieron libre acceso al agua. 4 horas antes de la cirugía, se administraron a los animales compuestos de interés a través de sonda nasogástrica. Los compuestos se diluyeron en aceite de sésamo para una dosis final de 5 ml/kg a 500 mg/kg. Los animales de control recibieron aceite de sésamo; 4 horas después de la administración del compuesto, las ratas se anestesiaron con tiobutabarbital al 3,0 % (Inactina; 100 mg/kg) en oxígeno al 0,8 % y se colocaron en el aparato estereotáxico. Se retiró hueso escamoso para exponer la arteria cerebral media (ACM). Se colocaron suturas en tres posiciones neuroanatómicamente diseñadas a lo largo del recipiente. Una vez que las suturas se colocaron, el temporizador se reajustó a "0". La reperfusión se inició retirando las suturas (el temporizador nuevamente se reajustó y esto inició el periodo denominado "reperfusión"). La reperfusión duró aproximadamente 5,5 horas adicionales, tiempo en que los animales se retiraron del marco y se les retiró el cerebro perfundiéndolo los animales con solución salina tamponada con fosfato (pH 7,4). El cerebro se colocó en una matriz de cerebro y se cortaron cortes coronales de 1 mm de grosor y se colocaron en TTC a temperatura ambiente durante 10 minutos. Los cortes se transfirieron a un vial que contenía formol al 10 %. Al día siguiente, los cortes se escanearon en un escáner plano y se entregaron a un analista de datos al que se le ocultó el estudio, y se cuantificaron los volúmenes de infarto de las imágenes digitalizadas usando el software Image J NIH.

Administración de fármaco: Alimentación por sonda nasogástrica

Un tubo nasogástrico para rata convencional (Popper & Sons Inc, NY) se unió a una jeringa hipodérmica de 3-cc. Los animales se mantuvieron por el hombro en una posición vertical. El tubo de alimentación se colocó en la boca después se hizo avanzar hasta alcanzar el estómago (la longitud de inserción aproximada del tubo se midió antes de la alimentación). Se administró lentamente el contenido de la jeringa, y después se retiró el tubo. Se disolvió tocotrienol quinona en aceite de sésamo y se administró 4 horas antes del infarto.

La administración de la composición alfa-tocotrienol quinona en el momento de la reperfusión dio como resultado una reducción del 40 % del volumen de infarto total, daño isquémico total y edema cerebral con respecto a los controles. La figura 1 mostró imágenes de los cortes del cerebro de ratas dosificadas con vehículo (Figura 1(a)) o con alfa-tocotrienol quinona (Figura 1(b)) en la reperfusión. La Figura 1(c) muestra una comparación volumétrica del infarto total con administración de vehículo frente a alfa-tocotrienol quinona en la reperfusión.

65

Ejemplo 3:Ensayo en sujeto humano

5 Este ensayo se diseñó como un estudio de eficacia, controlado por placebo, de doble ciego aleatorizado de la terapia que se describe en el presente documento en pacientes que presentan ictus isquémico agudo. Los pacientes se seleccionaron para el ensayo basándose en una serie de criterios de elegibilidad que se pueden determinar para cada estudio. Por ejemplo, el criterio puede incluir: edad (por ejemplo, 18-85 años), déficit neurológico focal perdurable al menos 60 minutos, TC (o IRM) compatible con diagnóstico clínico de ictus isquémico agudo, y Escala de Ictus NIH de al menos 8. El criterio de exclusión incluye, por ejemplo, enfermedad sistémica coexistente grave, afecciones médicas preexistentes que puedan interferir con la participación, y cirugía que sea necesaria en un plazo de 24 horas. El protocolo para el estudio debe ser aprobado por la junta de revisión institucional de la institución en donde se va a realizar el ensayo y todos los pacientes o sus representantes legales deben firmar un consentimiento informado.

15 El objetivo principal de este estudio es determinar los efectos sobre la recuperación de la terapia por vía oral administrada durante un periodo de tratamiento de 6 semanas y un periodo de seguimiento de 6 semanas en pacientes con ictus isquémico agudo. Los siguientes parámetros se pueden medir para evaluar la recuperación. El volumen de lesión por ictus se puede valorar usando IRM en peso T2 convencional para todos los pacientes en el ensayo. Adicionalmente, se puede realizar la formación de imágenes ponderadas por difusión (IPD) para comparar los cambios en volumen de la lesión en el momento basal con el volumen en la semana 12.

20 Para ser elegible para este estudio, el paciente tiene que presentarse en el plazo de 24 horas con síntomas, tras examen clínico, coherentes con un ictus isquémico agudo atribuible al territorio de la arteria cerebral media. Además, los pacientes deben tener al menos 8 puntos en la NIHSS con al menos dos de estos puntos de las secciones motoras.

25 Se puede realizar una CT o una exploración por IRM convencional basales para confirmar que es coherente con un diagnóstico de ictus isquémico.

30 Todos los pacientes admitidos de acuerdo con el criterio inclusión y exclusión y de los que se obtuvo el consentimiento informado se asignaron aleatoriamente uno a uno a 6 semanas de tratamiento con placebo o terapia de combinación. Tanto la terapia de combinación como placebo se pueden administrar por vía oral, ya sea una vez o dos veces al día. Se debe señalar que se pueden usar otras vías de administración y otras posologías. Si un paciente es incapaz de tragar, se coloca un tubo gástrico para administrarle el fármaco.

35 Los pacientes fueron observados por personal del estudio, 1 semana, fuera del hospital, 3 semanas, 6 semanas y 12 semanas, tiempo en que se midieron un perfil de efecto lateral y la eficacia de fármaco.

40 La eficacia de la terapia se puede medir de varias formas. La medición del resultado principal puede ser, por ejemplo, una comparación de la proporción de pacientes en los grupos de placebo y de terapia que han mejorado desde el momento basal en su puntuación total NIHSS en al menos 7 puntos en la semana 12. Las mediciones adicionales pueden incluir, por ejemplo, el porcentaje de pacientes que mejoraron en 1 o 2 puntos en la escala de Impresiones Globales del Médico (CGI, por sus siglas en inglés) (véase, Guy W., *Early clinical drug evaluation unit (ECDEU) assessment manual for psychopharmacology*. 1976, 217-222) a las 12 semanas, el porcentaje de pacientes que al menos tienen 2 puntos de mejora en la escala de gravedad CGI y la evaluación de la mortalidad. Como se ha mencionado previamente, se puede usar IPD para evaluar los cambios en volumen de la lesión en el momento basal y en la semana 12.

50 Ejemplo 4Procedimiento TEP

55 Se eluyó ^{62}Cu de un generador de positrones $^{62}\text{Zn}/^{62}\text{Cu}$ y se obtuvo ^{62}Cu -ATSM por mezclado simple de lo eluido del generador (^{62}Cu -glicina) y ATSM sintetizado mediante un método publicado anteriormente (Fujibayashi et al., (1997) *Copper-62 ATSM: a new hypoxia imaging agent with high membrane permeability low redox potential*. *J. Nucl. Med.* 38, 1155-1160). Se realizó un TEP dinámico de 20 minutos con inyección de bolo de ^{62}Cu -ATSM a través de la vena antecubital en aproximadamente 555 MBq con duraciones del marco de 10s x 12, 60s x 8 y 10 min x 1. Se calcularon las imágenes tempranas y tardías usando los primeros 3 minutos de datos de TEP y el último marco de los datos dinámicos. La acumulación de ^{62}Cu -ATSM en la fase temprana refleja el flujo sanguíneo coronario (Fujibayashi et al., (1997), *J. Nucl. Med.* (1997) 38(7) 1155-1160); Lewis et al., (2001) *J. Nucl. Med.* 42, 655-661; Obata et al., (2001) *Ann. Nucl. Med.* 15, 499-504; y Dearling et al., (2002) *J. Biol. Inorg. Chem.* 7, 249-259). Para ^{18}F FDG-TEP, se administraron aproximadamente 150 MBq o trazador aproximadamente 1 hora después de la inyección de ^{62}Cu -ATSM. Cincuenta minutos después de la inyección de trazador, se inició la obtención de TEP de 65 10 minutos.

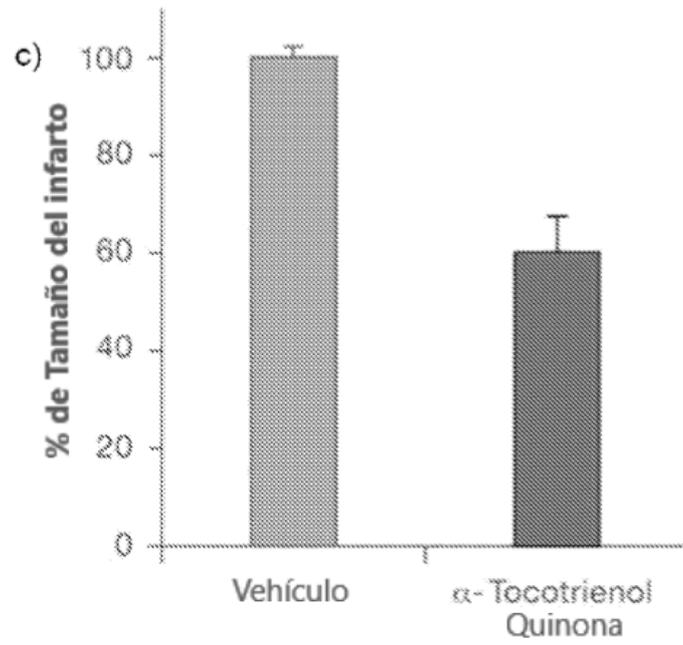
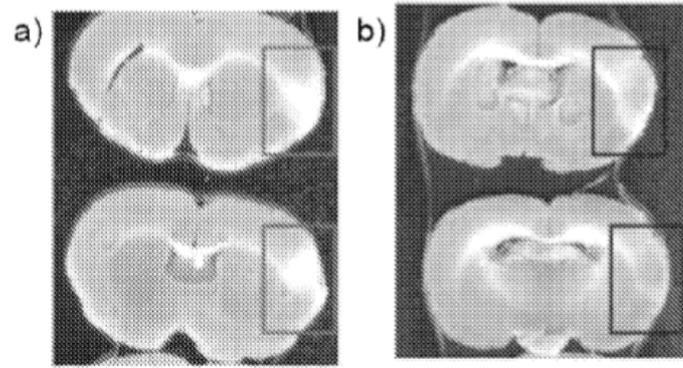
5 Las imágenes reconstruidas después se convirtieron en imágenes semicuantitativas corregidas por la dosis de inyección y el peso corporal del sujeto (= valor de captación normalizado: VCN) para el análisis de los datos. Se colocaron regiones circulares múltiples de interés de 1 cm de diámetro en cada lesión y cerebelo, y después se calcularon los valores de VCN medios. Las relaciones de VCN se derivaron a partir de la relación de VCN de cada lesión al VCN del cerebelo.

10 Aunque la invención anterior se ha descrito con algún detalle a modo de ilustración y ejemplo, con fines de claridad y de comprensión, es evidente para los expertos en la materia que se pueden poner en práctica determinados cambios y modificaciones menores.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para su uso en el tratamiento, la prevención y/o la mejora del daño neuronal asociado a un episodio isquémico cerebral o una hipoxia en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, comprendiendo dicha composición una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o una mezcla de estereoisómeros de las mismas; con la condición de que dicho sujeto no sufra una enfermedad mitocondrial.
- 10 2. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde la composición comprende una cantidad eficaz de alfa-tocotrienol quinona o cualquier estereoisómero, o mezcla de estereoisómeros, de la misma.
- 15 3. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde el episodio isquémico cerebral es secundario a una oclusión de la vasculatura cerebral.
- 20 4. Una composición como se reivindica en la reivindicación 3, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde la oclusión se debe a una tromboembolia.
- 25 5. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde la isquemia cerebral se debe a un espasmo de la vasculatura coronaria.
6. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde el episodio isquémico cerebral es secundario a un cese de la función cardiaca, un procedimiento de derivación cardiopulmonar o un episodio hemorrágico en la vasculatura cerebral.
- 30 7. Una composición como se reivindica en la reivindicación 2, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición de tocotrienol quinona comprende al menos aproximadamente un 65 % de alfa-tocotrienol quinona.
- 35 8. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición comprende adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable.
9. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición se administra por vía oral.
- 40 10. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición se administra por vía parenteral.
- 45 11. Una composición como se reivindica en la reivindicación 2, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición comprende alfa-tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero.
- 50 12. Una composición como se reivindica en la reivindicación 2, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicha composición comprende alfa-tocotrienol quinona en un intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg por kg de peso corporal del sujeto mamífero.
- 55 13. Una composición como se reivindica en la reivindicación 1, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde dicho daño neuronal se selecciona entre muerte celular neuronal, volumen de infarto cerebral total, daño isquémico cerebral, edema de tejido cerebral y disfunción cognitiva.
- 60 14. Una composición para su uso en el tratamiento y/o la mejora de un evento isquémico cerebral o una hipoxia en un sujeto mamífero que necesita dicho tratamiento, comprendiendo dicha composición una cantidad eficaz de una tocotrienol quinona seleccionada entre el grupo que consiste en alfa-tocotrienol quinona, beta-tocotrienol quinona, gamma-tocotrienol quinona y delta-tocotrienol quinona, o una mezcla de las mismas, o un solo estereoisómero o una mezcla de estereoisómeros de las mismas; con la condición de que dicho sujeto no padezca una enfermedad mitocondrial donde el ictus es uno de los síntomas de la enfermedad mitocondrial.
- 65 15. Una composición como se reivindica en la reivindicación 14, para su uso como se define en dicha reivindicación, en donde la composición comprende una cantidad eficaz de alfa-tocotrienol quinona o cualquier estereoisómero, o mezcla de estereoisómeros, de la misma.
16. La composición como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-15, para su uso como se define en dichas reivindicaciones, en donde la alfa-tocotrienol quinona o un estereoisómero, o mezcla de estereoisómeros, de la misma, son el único principio activo presente en una cantidad eficaz en la composición.

Figura 1



Comparación volumétrica del infarto total