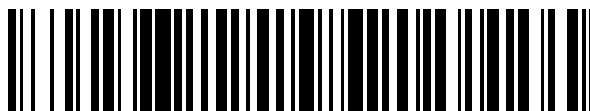


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 862**

51 Int. Cl.:

A61K 36/88 (2006.01)

A61K 31/12 (2006.01)

A61K 31/7028 (2006.01)

A61K 36/9066 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.03.2015 PCT/IB2015/052053**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.10.2015 WO15145316**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.03.2015 E 15715451 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3122367**

54 Título: **Composiciones basadas en azafrán para la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos**

30 Prioridad:

28.03.2014 IT MI20140533

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

06.11.2019

73 Titular/es:

**HORTUS NOVUS SRL (100.0%)
Via Campo Sportivo 2
67050 Canistro (AQ), IT**

72 Inventor/es:

**BISTI, SILVIA;
MACCARONE, RITA y
MAGGI, MARIA ANNA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 729 862 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones basadas en azafrán para la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos

5 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria, preferiblemente un complemento alimenticio, que comprende azafrán, y el uso de la misma en la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria, preferiblemente un complemento alimenticio, que comprende azafrán y curcumina para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos.

Estado de la técnica

10 Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por el empobrecimiento de las células nerviosas, que mueren cuando se desencadena un programa genético de autoeliminación, es decir, apoptosis.

La apoptosis es el mecanismo principal de la muerte celular neuronal y de las degeneraciones inducidas y hereditarias de la retina, como la degeneración macular relacionada con la edad (AMD) y todos los trastornos degenerativos debidos a mutaciones genéticas, tal como, por ejemplo, la retinitis pigmentosa (RP).

15 La AMD es la causa más común de pérdida de visión en la vejez.

La patogenia de la AMD parece ser el resultado de la interacción entre mutaciones genéticas, el estrés metabólico del epitelio pigmentario de la retina y los tejidos adyacentes, y factores exógenos, que determina el daño o la muerte por apoptosis de los fotorreceptores.

20 Los fotorreceptores son las células nerviosas que convierten la luz en señales eléctricas, señales que, procesadas a nivel de las redes neuronales, dan lugar a la percepción visual. Su metabolismo es intenso y requiere grandes cantidades de oxígeno. Sin embargo, con los años, el mecanismo tiende a atascarse, y el oxígeno que era vital puede volverse tóxico para estas células, que las daña causando finalmente su muerte. Esto es lo que sucede en diversas formas de ceguera senil y, debido a defectos genéticos, también en maculopatías hereditarias, como la retinitis pigmentosa y la enfermedad de Stargardt.

25 La AMD afecta específicamente la región macular central de la retina, donde tanto las células ganglionares como los conos están altamente concentrados.

Hasta la fecha, se han ofrecido varias posibilidades terapéuticas, pero los resultados todavía son modestos. Los tratamientos disponibles actualmente en el mercado son la terapia fotodinámica, las inyecciones intravítreas de triamcinolona o los fármacos antiangiogénicos.

30 La RP se caracteriza normalmente por la distrofia de conos y bastones de la retina, que conduce a la muerte celular de estos fotorreceptores, lo que da como resultado una pérdida gradual y progresiva de la visión.

Los datos epidemiológicos indican que varios factores pueden aumentar o disminuir la probabilidad de degeneración y/o disfunción de los fotorreceptores en la AMD y la RP. Muchos factores de riesgo son de tipo oxidativo, mientras que otros factores de protección actúan como antioxidantes.

35 Se atribuye una acción protectora a los complementos dietéticos que contienen antioxidantes, como carotenoides, luteína y zeaxantina, que son componentes del pigmento macular, cuya función sería contrarrestar las especies reactivas de oxígeno que resultan de la exposición a la luz.

40 El azafrán, que son los estigmas de la planta de *Crocus sativus*, es conocido por su actividad antioxidante/antiinflamatoria. Recientemente, se demostró que su extracto crudo y derivados purificados del mismo, son capaces de prevenir la formación de tumores, aterosclerosis y daño hepático y renal.

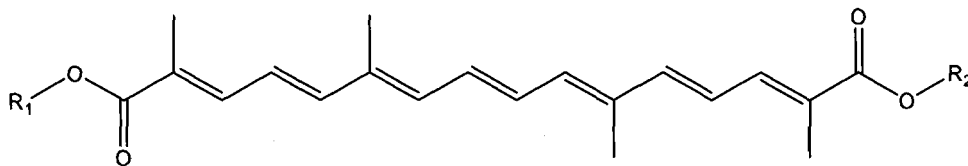
La química del azafrán es compleja y existen muchos tipos de azafrán, obtenidos de diferentes variedades y preparados de manera diferente.

Estas variedades difieren en la cantidad de sus componentes, tales como las crocinas, crocetas (derivados de carotenoides), picrocrocina, canferol y safranal.

45 Estudios experimentales recientes describen el papel del azafrán en la neuroprotección de fotorreceptores de la retina que sufren estrés oxidativo (Maccarone *et al.* Invest. Ophthal Visual Sci. 49 (3):1254-61, 2008). En estos experimentos, fue posible demostrar que una dieta enriquecida con azafrán mantiene tanto la morfología como la función de los fotorreceptores, reduciendo significativamente su muerte celular.

50 Se demostró que la actividad del azafrán en la prevención de la apoptosis de los fotorreceptores se debe a las crocinas que contiene.

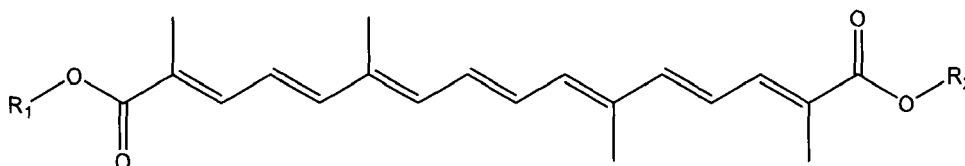
Las crocinas han demostrado ser capaces de activar rutas metabólicas para proteger células de la apoptosis y de reducir la muerte de fotorreceptores aislados causados por la luz. Químicamente, las crocinas son compuestos de fórmula I, es decir, diésteres del ácido dicarboxílico crocetina, en donde los grupos carboxilo están esterificados por R_1 y R_2 , en donde ambos grupos R_1 y R_2 pueden ser, independientemente, gentiobiosa, glucosa y muchos otros azúcares:



Fórmula I

Por lo tanto, pueden distinguirse diferentes crocinas, en las que los grupos de ácido de la crocetina se esterifican con diferentes sacáridos.

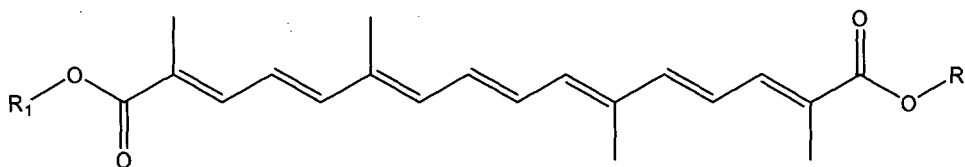
En las diferentes variedades de azafrán, las crocinas más abundantes son *trans-crocina* T1 (*trans-crocina*-4-gentiobiosa-gentiobiosa), de fórmula II



Fórmula II

en donde $R_1 = R_2 =$ gentiobiosa,

y *trans-crocina* T2 (*trans-crocina*-3-gentiobiosa-glucosa), de fórmula III



Fórmula III

$R_1 =$ gentiobiosa y $R_2 =$ glucosa.

También pertenecen al grupo de crocinas análogos que tienen una configuración diferente del doble enlace 5-6 de la cadena de alquilo de crocetina, es decir compuestos que tienen la configuración *cis* en lugar de la configuración *trans*, llamados *cis-crocinas*. Tal como se mencionó anteriormente, no todas las variedades de azafrán fueron igualmente eficaces en la prevención de la apoptosis de los fotorreceptores.

Además, las investigaciones llevadas a cabo sobre variedades de azafrán de diferente origen geográfico han revelado que estas diferentes variedades de azafrán difieren principalmente en sus contenidos de crocinas *trans* y *cis*, y también han mostrado que los resultados experimentales, en términos de eficacia contra la apoptosis celular, varían de manera correspondiente.

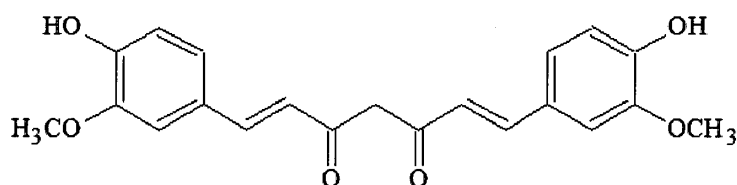
Además, siempre en relación con la comparación de variedades de azafrán de diferente origen, se observó que para algunas de las variedades el contenido de diferentes crocinas *trans* y/o *cis* no son sustancialmente constantes de una cosecha a otra, pero pueden variar hasta un punto no despreciable.

Por lo tanto, es evidente que la simple referencia al uso de un azafrán genérico como agente preventivo o terapéutico no es suficiente para garantizar el resultado deseado. Por ejemplo, si el protocolo de tratamiento especificado posteriormente se realiza en paralelo, en ratones que tienen el mismo grado de degeneración ocular inducida con un mecanismo idéntico, con un azafrán de Italia central, en particular de Abruzzos, Umbría y Toscana, y respectivamente con un azafrán producido en Oriente Medio (tal como uno producido en Irán), los resultados obtenidos son radicalmente diferentes, lo que significa que, con el segundo azafrán, en las mismas condiciones experimentales, no se observan mejoras comparables a las logradas con el primer tipo de azafrán.

Además, se obtienen resultados similares utilizando un azafrán producido en Nueva Zelanda o Tasmania, de modo que no pueden asumirse la intervención o concurrencia de diferentes condiciones geográficas y climáticas, ya que las que existen en Italia central y en Tasmania son profundamente diferentes de manera mutua.

5 La curcumina es el principal componente biológicamente activo de *Curcuma longa*, que es un componente del grupo botánico de la cúrcuma. La curcumina se obtiene de la raíz y el rizoma (el tallo subterráneo) de la planta.

La fórmula química de la curcumina es $C_{21}H_{20}O_6$, también se conoce como diferuloilmetano, y la fórmula estructural es la siguiente:



10 La curcumina se asocia con propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes significativas, y por esta razón se utiliza como tratamiento natural para un gran número de enfermedades.

La curcumina ha demostrado ser eficaz en la prevención de ciertos trastornos oculares inflamatorios y degenerativos.

Por ejemplo, la administración a ratas expuestas a la luz de una dieta añadida con el 0,2% de curcumina mostró una reducción en la aparición del estrés oxidativo e inflamatorio de la retina, (Mandal *et al.* Free Radic Biol Med. 2009; 46 (5): 672-679).

15 La curcumina, administrada en cantidades de 100 mg/kg en ratas afectadas por la mutación P23H en el gen de la rodopsina, también ha demostrado ser activa en la inhibición de la formación de agregados de rodopsina. La acumulación de estos agregados está relacionada con la degeneración de los fotorreceptores en aproximadamente el 25% de las formas autosómicas de retinitis pigmentosa. Las ratas transgénicas, a las que se administró curcumina, mostraron una mejora en la morfología de la retina, y específicamente en la conservación de fotorreceptores (Vasireddy V. *et al.* PLoS ONE; junio de 2011; Volumen 6 (6): 1-10).

El documento GB 2483121 describe una composición de complemento dietético que comprende azafrán y resveratrol para su uso en el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad u otras enfermedades relacionadas con la edad.

25 El principal objetivo de la presente invención es proporcionar una composición que permita curar y también prevenir los trastornos oculares degenerativos, por cura se entiende la detención o incluso una mejora parcial de la degeneración ocular existente al comienzo de la terapia.

Descripción de la invención

30 Este objetivo se logra con una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria que comprende azafrán en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos. Los trastornos degenerativos del ojo a los que se dirige la presente invención son degeneraciones hereditarias de la retina, tales como todas las formas degenerativas debidas a mutaciones genéticas tales como la retinitis pigmentosa (RP) y la enfermedad de Stargardt, o degeneraciones inducidas de la retina, tales como la degeneración macular relacionada con la edad (AMD).

35 Por "azafrán" en la presente invención se entiende un producto seco obtenido de *Crocus sativus*, que comprende crocinas, picrocrocina, canferol y safranal, mezcla en la que *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa está presente en una cantidad igual a o mayor del 16,9% en peso, basándose en el peso total de azafrán, y en la que *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa está presente preferiblemente en una cantidad igual a o mayor del 8% en peso, basándose en el peso total de azafrán.

40 Por lo tanto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria, preferiblemente un complemento alimenticio, que comprende cantidades eficaces de azafrán, en las que la cantidad de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa es igual a o mayor del 16,9% en peso, basándose en el peso total de azafrán y la cantidad de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa es preferiblemente igual a o mayor del 8% en peso, basándose en el peso total del azafrán, para su uso en el tratamiento de trastornos oculares degenerativos, y particularmente de formas degenerativas debido a mutaciones genéticas, tales como retinitis pigmentosa (RP) y enfermedad de Stargardt, o las degeneraciones inducidas de la retina, tales como la degeneración macular relacionada con la edad (AMD).

45 En un aspecto preferido, el azafrán contenido en la composición de la invención procede de las regiones de Abruzzo, Umbria o Toscana.

La administración de la composición puede ocurrir de manera sistémica, particularmente por vía oral, sin requerir, como en los métodos conocidos de tratamiento de trastornos oculares degenerativos, el uso de técnicas, tales como inyecciones intravítreas o terapia fotodinámica, que son altamente invasivas y, en cualquier caso, gravosas para el paciente.

5 La dosis diaria y la duración del tratamiento varían según la indicación, la edad y la situación clínica del paciente.

Un aspecto específico adicional de la presente invención es que el efecto deseado se logra cuando se establece un cierto nivel de azafrán en sangre en el paciente, un nivel que, tal como se establece experimentalmente, se logra solo después de 15 días de administración de una cantidad de azafrán igual a 20 mg/día.

10 En otras palabras, incluso si, hipotéticamente, se administrara a un paciente la misma cantidad de azafrán correspondiente a una administración de 20 mg/día en una sola disolución, esto no lograría el nivel en sangre requerido para que el azafrán ejerza su acción, por lo tanto, parece plausible que incluso si el azafrán se administra en exceso de la dosis mencionada anteriormente, la cantidad en exceso se expulsa sin ningún efecto.

15 En un aspecto preferido, la composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria de la presente invención comprende cantidades eficaces de azafrán en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable en la misma unidad de dosificación.

Dado que la composición según la presente invención se realiza utilizando azafrán, entendido como el producto secado obtenido de *Crocus sativus*, la composición según la presente invención comprende una cantidad de *Crocus sativus* de entre 5 y 50 mg, lo que significa que la dosis diaria deberá cumplir con los límites especificados anteriormente.

20 También se mostró que la combinación de azafrán con una cantidad adecuada de curcumina permite obtener una ventaja adicional en términos de eficacia en la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos.

25 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere, por lo tanto, a una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria, preferiblemente un complemento alimenticio, que comprende cantidades eficaces de azafrán, en la que la cantidad de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa está presente en cantidades mayores de o iguales al 16,9% en peso con respecto al peso total de azafrán y en la que *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa está presente preferiblemente en una cantidad igual a o mayor del 8% en peso, basándose en el peso total del azafrán, en combinación con cantidades eficaces de curcumina, para su uso en el tratamiento de trastornos oculares degenerativos y, en particular, trastornos degenerativos debidos a mutación genética, tal como la retinitis pigmentosa (RP) y la enfermedad de Stargardt, o degeneraciones inducidas de la retina, tal como la degeneración macular relacionada (AMD).

30 Con respecto a la curcumina, se encontró que la dosis eficaz es de aproximadamente 100 mg/día. La composición de la invención, que comprende la combinación de azafrán y curcumina, es capaz de ejercer una actividad mayor que una composición que comprende solamente azafrán o curcumina solos, demostrando así un efecto sinérgico dado por la combinación de azafrán y curcumina.

35 Una característica específica de la presente invención es el hecho de que la composición administrada consiste en sustancias normalmente clasificadas como especias y sin efectos secundarios para el paciente, ya que tanto el azafrán como la cúrcuma (el extracto de cúrcuma es el componente principal del llamado "curry") son ingredientes habituales de muchas recetas.

En un aspecto de la presente invención, la combinación de azafrán y curcumina se caracteriza por que dicho azafrán se administra en una dosis diaria de 20 mg/día, y dicha curcumina se administra en una dosis diaria de 100 mg/día.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria que comprende azafrán, en la que *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa está presente en una cantidad mayor de o igual al 16,9% en peso, basándose en el peso total de azafrán, y en el que *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa está presente preferiblemente en una cantidad igual a o mayor del 8% en peso, basándose en el peso total de azafrán y curcumina, y en asociación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos oculares degenerativos, y particularmente trastornos degenerativos debidos a mutación genética, tal como retinitis pigmentosa (RP) y enfermedad de Stargardt, o degeneraciones inducidas de la retina, tal como la degeneración macular relacionada (AMD).

45 Las composiciones farmacéuticas, dietéticas y/o alimentarias de la presente invención se formulan preferiblemente en forma sólida, seleccionándose dicha forma sólida entre comprimido, granulado, gragea o cápsula, más preferiblemente comprimido.

50 Para obtener las composiciones farmacéuticas, dietéticas y/o alimentarias según la presente invención, se usan preferiblemente las siguientes clases de excipientes conocidos: agentes antiaglomerantes, edulcorantes, tensioactivos (catiónicos, aniónicos o no iónicos), diluyentes, agentes de agregación o aglutinantes, lubricantes, deslizantes, estabilizantes, solubilizantes, emulsionantes, humectantes, agentes aromatizantes, agentes de recubrimiento, colorantes, reguladores de la acidez, o una mezcla de los mismos.

55

En un aspecto preferido, las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden azafrán y curcumina en combinación con al menos un excipiente fisiológicamente aceptable en la misma unidad de dosificación, en forma de un comprimido para administración oral.

5 Dado que la composición según la presente invención se realiza utilizando azafrán, entendido como el producto secado obtenido de *Crocus sativus* y cúrcuma, entendido como el producto pigmentado amarillo obtenido de los rizomas de *Curcuma longa*, la composición según la presente invención comprende una cantidad de *Curcuma longa* que oscila entre 30 y 200 mg, y una cantidad de *Crocus sativus* que oscila entre 5 y 50 mg, lo que significa que la dosis diaria deberá cumplir con los límites especificados anteriormente.

10 En un aspecto preferido, la combinación y/o las composiciones farmacéuticas de esta invención se administran a mamíferos, especialmente a seres humanos.

Los siguientes ejemplos pretenden entender mejor la invención, sin limitarla de ninguna manera.

Ejemplos

Ejemplo 1

Análisis morfológico de la retina

15 El perfil de eficacia asociado con la administración de azafrán en la actividad de neuroprotección se verificó llevando a cabo un análisis morfológico de la retina en ratas albinas SD sometidas a daño por luz en un modelo de degeneración de la retina, para cuantificar el daño y evaluar la posible actividad protectora de azafrán.

En un primer grupo, cada rata se trató durante 7 días con azafrán disuelto en agua de red corriente, a una dosis de 1 mg de azafrán por Kg de peso corporal del animal. El tratamiento se preparó diariamente.

20 Un segundo grupo de ratas no fue sometido a ningún tratamiento.

En el séptimo día, los animales se sometieron a un daño por luz durante 24 h, y posteriormente se trataron durante otros 7 días. Después de lo cual, se sacrificaron, se explantaron los ojos y se aislaron las retinas.

Luego se midieron el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL), que contiene los fotorreceptores, y el grosor de toda la retina, y se calculó la razón de estos valores.

25 Los resultados obtenidos han mostrado que los animales tratados previamente con azafrán muestran un adelgazamiento disminuido del grosor de la retina, en comparación con lo que ocurrió con los animales no tratados.

El grosor de la retina disminuye con la exposición a un daño por luz. La razón entre el grosor de la capa interna de la retina y el grosor de toda la retina es, por lo tanto, indicativa del daño por luz sufrido por los animales. Por lo tanto, se demostró la actividad neuroprotectora del azafrán.

30 Ejemplo 2

Para verificar experimentalmente el efecto de la combinación de azafrán y curcumina según la presente invención, se preparó una composición en comprimidos, comprendiendo cada comprimido 10 mg de *Crocus sativus* y 50 mg de *Curcuma longa* junto con los excipientes habituales de composiciones sólidas en las que los principios activos están en forma de polvo sólido.

35 Se dividieron en dos grupos 29 pacientes de edad promedio avanzada (desde 55 hasta 85 años), que padecían todos degeneración macular bilateral, temprana y dependiente de la edad, el primero de los cuales se sometió a administración de dos comprimidos/día durante 90 días, realizando una serie de pruebas clínicas al inicio del tratamiento y después de 90 días.

40 Las investigaciones se referían a la prueba de agudeza visual de Snellen, el examen del fondo de ojo a través de la investigación oftalmoscópica directa e indirecta y la prueba de fERG realizada según la técnica acreditada (B. Falsini y otros, "Retinal sensitivity to flicker modulation: reduced by early age-related maculopathy", Investigative Ophthalmology and Visual Science, vol. 41, n.º 6, págs.1498-1506, 2000).

Al final de los 90 días, después de un descanso de 15 días, se repitió la prueba invirtiendo los grupos de pacientes (es decir administrar el placebo al grupo que en el período anterior se había tratado con la composición de la invención).

45 El experimento se realizó durante un total de 15 meses.

Los resultados del experimento pueden resumirse de la siguiente manera:

Prueba de fERG

5 Después de tres meses de administración, la amplitud de fERG se aumenta en comparación con el valor inicial, dando como resultado una reducción del umbral de respuesta, tal como indica la disminución de la profundidad mínima de modulación, dando lugar a una respuesta significativamente mayor que el nivel de base. Además, los datos de fERG mostraron una modesta variabilidad en la secuencia de prueba y repetición de prueba.

De hecho, en la mayoría de los pacientes, los cambios en los umbrales de respuesta observados fueron sustancialmente iguales al sexto y duodécimo mes, y tales variaciones mostraron de todos modos una reducción variable del valor umbral en comparación con el valor inicial correspondiente.

Prueba de agudeza visual

10 Ya después de los primeros tres meses de administración, la agudeza visual media mostró una mejora de dos líneas de Snellen y, en cualquier caso, el aumento de la agudeza visual permaneció estable durante todo el período de observación.

Examen del fondo de ojo

15 Esta prueba, que se llevó a cabo periódicamente en todos los pacientes, no mostró cambios significativos en el número y tamaño de las drusas, así como en lo que se refiere a la extensión de las anomalías del epitelio pigmentario de la retina (RPE).

Finalmente, en paralelo a la mejora de la agudeza visual, los pacientes informaron de una mejora en la calidad de la visión, particularmente en lo que se refiere a la percepción del contraste y el color, las habilidades de lectura y la visión en baja luminancia, lo que dio como resultado una mejora sustancial de la calidad de vida.

20 Ejemplo 3

Análisis morfológico de la retina.

Se verificó el perfil de eficacia asociado con la administración de azafrán según la presente invención en la actividad de neuroprotección mediante un análisis morfológico de la retina en ratas albinas SD sometidas a daño por luz en un modelo de degeneración de la retina, para cuantificar el daño y evaluar la posible actividad protectora del azafrán.

25 Los animales se dividieron en cuatro grupos:

Grupo 1: ratas tratadas con azafrán que tenía un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) mayor que o igual al 16,9% y de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual a o mayor del 8% (azafrán B);

Grupo 2: ratas tratadas con azafrán que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual al 12% y de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual al 6% (azafrán A);

30 Grupo 3: ratas no tratadas, pero sometidas a daño por luz (retina enferma);

Grupo 4: animales sanos (retina sana).

Los animales del grupo 1 y 2 se trataron durante 7 días con azafrán disuelto en agua de red corriente, a una dosis de 1 mg de azafrán por kg de peso corporal del animal. El tratamiento se preparó diariamente.

35 En el séptimo día, se sometió a los animales a un daño por luz durante 24 horas, y posteriormente se trataron durante otros 7 días.

En el séptimo día, se sometió a los animales del grupo 3 a un daño por luz durante 24 horas.

No se sometió a los animales del grupo 4 a tratamiento basado en azafrán, ni a daños por luz.

En el decimocuarto día se sacrificaron todos los animales, se explantaron los ojos y se aislaron las retinas.

40 Luego se midieron el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL), que contiene los fotorreceptores, y el grosor de toda la retina, y se calculó la razón de estos valores.

El gráfico en la figura 2 muestra los valores de estas razones.

45 Los resultados muestran que el azafrán que comprende el 12% de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) y el 6% de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) (azafrán A) no muestra ninguna actividad neuroprotectora; La relación entre el grosor de la capa nuclear externa de la retina y el grosor de toda la retina es, de hecho, comparable a la de las retinas de animales sometidos a daños por luz sin ningún tratamiento (retinas enfermas).

En cambio, el valor de la razón entre el grosor de la capa nuclear externa de la retina y el grosor de toda la retina, en animales tratados con azafrán de la invención, que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa igual a o mayor del 16,9% y de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa igual a o mayor del 8% (azafrán B) es comparable al de los animales sanos (retina sana).

- 5 Estos datos demuestran la actividad neuroprotectora del azafrán que comprende *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa en cantidades iguales a o mayores del 16,9% y *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa igual a o mayor de al o por encima del 8%.

Ejemplo 4

Análisis morfológico de la retina.

- 10 Se verificó el perfil de eficacia asociado con la administración de una combinación de azafrán y curcumina según la presente invención en la actividad de neuroprotección mediante la realización de un análisis morfológico de la retina en ratas albinas SD sometidas a daño por luz en un modelo de degeneración de la retina, para cuantificar el daño y evaluar la posible actividad protectora de esta combinación de azafrán y curcumina en comparación con la del azafrán solo y la curcumina sola.

- 15 Los animales se dividieron en cinco grupos:

Grupo 1: ratas tratadas con azafrán que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual a o mayor del 16,9% y de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual a o mayor del 8% (azafrán);

- 20 Grupo 2: ratas tratadas con la combinación de azafrán que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual a o mayor del 16,9% y de *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual a o mayor del 8% y curcumina (curcumina + azafrán);

Grupo 3: ratas tratadas con curcumina sola (curcumina);

Grupo 4: ratas no tratadas, pero sometidas a daño por luz (control-LD);

Grupo 5: animales sanos (control).

- 25 Los animales del grupo 1 se trataron durante 7 días con azafrán disuelto en agua de red corriente, a una dosis de 1 mg de azafrán por kg de peso corporal del animal. El tratamiento se preparó diariamente.

Los animales del grupo 2 se trataron durante 7 días con una combinación que comprendía azafrán y curcumina, a una dosis de 1 mg de azafrán y 5 mg de curcumina por kg de peso corporal del animal.

Los animales del grupo 3 se trataron durante 7 días con curcumina, a una dosis de 5 mg de curcumina, disuelta en aceite, por kg de peso corporal del animal.

- 30 En el séptimo día, los animales de los grupos 1, 2 y 3 se sometieron a un daño por luz durante 24 horas, y luego se trataron durante otros 7 días.

En el séptimo día, los animales del grupo 4 se sometieron a daño por luz durante 24 horas.

Los animales del grupo 5 no se han sometido al tratamiento a base de azafrán, curcumina o combinación de los mismos, ni a daños por luz.

- 35 En el decimocuarto día se sacrificaron todos los animales, se explantaron los ojos y se aislaron las retinas.

Luego se midieron el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL), que contiene los fotorreceptores, y el grosor de toda la retina en el área del daño máximo de la estructura principal de la retina (definida como puntos calientes), y se calculó la razón de estos valores.

El gráfico en la figura 3 muestra los valores de estas razones.

- 40 Los resultados demuestran que la composición que comprende la combinación de azafrán y curcumina según la presente invención es capaz de ejercer una actividad mayor que una composición que contiene el azafrán solo o la curcumina sola, demostrando así un efecto sinérgico proporcionado por la combinación de azafrán y curcumina.

Breve descripción de los dibujos

- 45 Figura 1. Representación de la razón entre el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL) y el grosor de toda la retina, en un modelo de degeneración de fotorreceptores. En la figura se comparan: animales tratados con azafrán y animales de control (sin tratamiento).

5 Figura 2. Representación de la razón entre el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL) y el grosor de toda la retina, en un modelo de degeneración de fotorreceptores. En la figura se comparan: animales tratados con azafrán que comprende *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa en una cantidad igual a o mayor del 16,9% y *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa en una cantidad igual a o mayor del 8% (azafrán B); animales tratados con azafrán que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual al 12% y *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual al 6% (azafrán A); animales no tratados, pero sometidos a daños por luz (retina enferma); y animales sanos (retina sana).

10 Figura 3. Representación de la razón entre el grosor de la capa nuclear externa de la retina (ONL) y el grosor de toda la retina, en un modelo de degeneración de fotorreceptores. En la figura se comparan: animales tratados con azafrán que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual a o mayor del 16,9% y *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual a o mayor del 8% (azafrán); animales tratados con la combinación de azafrán, que tiene un contenido de *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa (T1) igual a o mayor del 16,9% y *trans*-crocina-3-gentiobiosa-glucosa (T2) igual a o mayor del 8%, y cúrcuma (curcumina + azafrán); animales tratados con curcumina sola (curcumina); animales no tratados, pero sometidos a daño por luz (control-LD); animales sanos (control).

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica, dietética y/o alimentaria, preferiblemente un complemento alimenticio, que comprende cantidades efectivas de azafrán, en la que *trans*-crocina-4-gentiobiosa-gentiobiosa está presente en una cantidad igual a o mayor del 16,9% en peso, basándose en el peso total de azafrán, para su uso en el tratamiento de trastornos oculares degenerativos.
2. Composición para su uso según la reivindicación 1, caracterizada por que, en dicha transcrocina-3-arginobiosoglucosa de azafrán está presente preferiblemente en una cantidad igual o superior al 8% en peso, basándose en el peso total de azafrán.
- 10 3. Composición o uso según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que los trastornos oculares degenerativos se seleccionan del grupo que incluye degeneraciones hereditarias de la retina y degeneraciones inducidas de la retina.
4. Composición para su uso según la reivindicación 3, en la que dichas degeneraciones hereditarias de la retina son retinitis pigmentosa y enfermedad de Stargardt, y dichas degeneraciones inducidas de la retina son degeneración macular relacionada con la edad.
- 15 5. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que la composición contiene una cantidad de *Crocus sativus* que oscila entre 5 y 50 mg.
6. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que dicho azafrán ha de administrarse en una dosis diaria de 20 mg/día.
7. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que contiene además cantidades eficaces de curcumina.
- 20 8. Composición para su uso según la reivindicación 7, caracterizada por que la composición contiene una cantidad de *Curcuma longa* que oscila entre 30 y 200 mg, y una cantidad de *Crocus sativus* que oscila entre 5 y 50 mg.
9. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 7 u 8, caracterizada por que dicho azafrán ha de administrarse en una dosis diaria de 20 mg/día, y dicha curcumina ha de administrarse en una dosis diaria de 100 mg/día.
- 25 10. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que ha de administrarse a los mamíferos, particularmente a los seres humanos.
11. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además al menos un excipiente fisiológicamente aceptable.
- 30 12. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores en forma de comprimido, gragea o cápsula, preferiblemente comprimido.
13. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que dicho azafrán procede de las regiones de Abruzos, Umbría o Toscana.

Figura 1

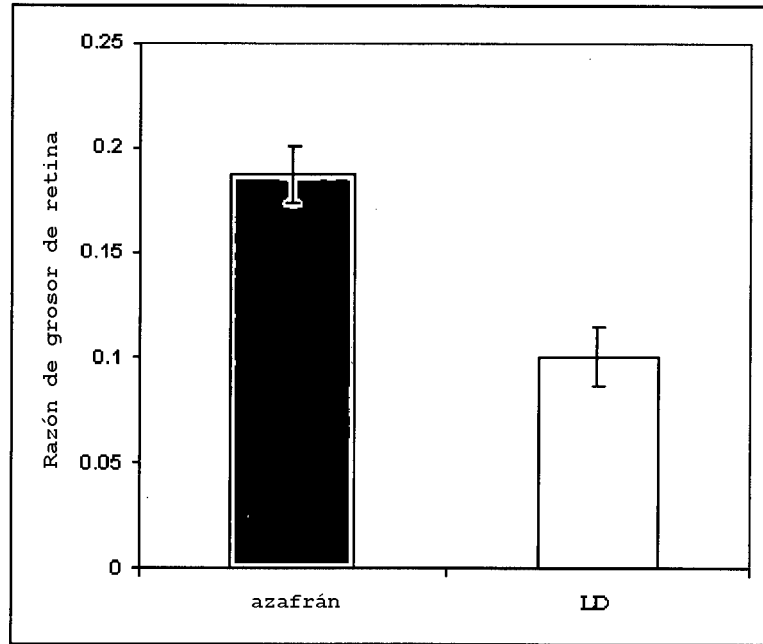


Figura 2

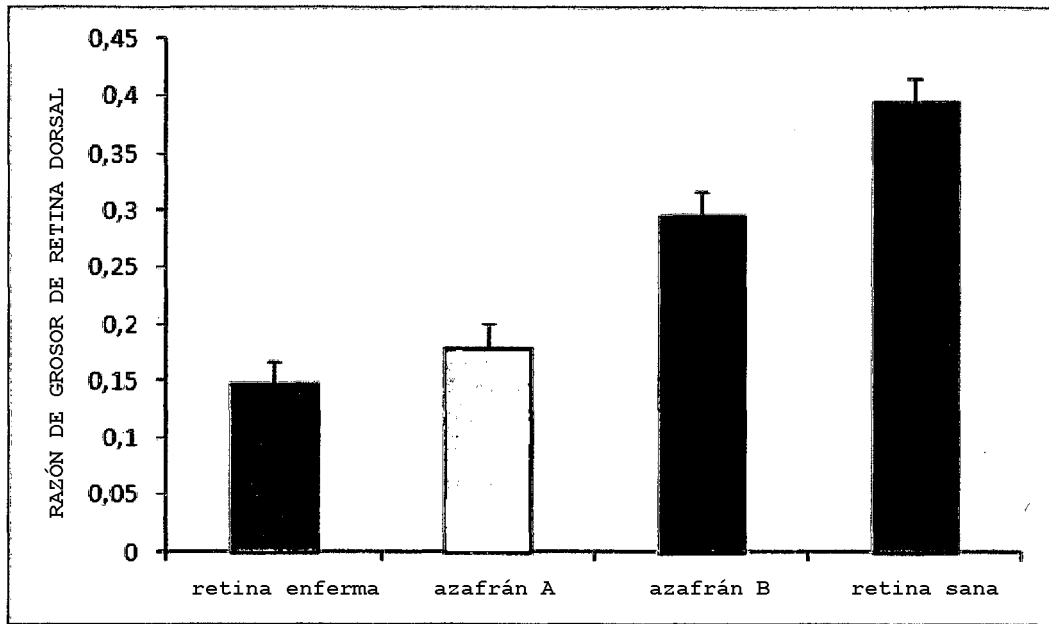


Figura 3

