

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 775 734**

51 Int. Cl.:

A61K 36/756 (2006.01)
A61K 38/01 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/7076 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.08.2016 PCT/US2016/049630**

87 Fecha y número de publicación internacional: **09.03.2017 WO17040611**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.08.2016 E 16766152 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.12.2019 EP 3344273**

54 Título: **Composiciones que comprenden magnolia, felodendron, teanina y/o proteína de suero**

30 Prioridad:

31.08.2015 US 201562212080 P

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

28.07.2020

73 Titular/es:

**NUTRAMAX LABORATORIES, INC. (100.0%)
946 Quality Drive
Lancaster SC 29720, US**

72 Inventor/es:

**HENDERSON, TODD;
GRIFFIN, DAVID y
BLEDSOE, DAVID**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 775 734 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 que comprenden magnolia, felodendron, teanina y/o proteína de suero

- 5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional de EE. UU. la solicitud de patente provisional de EE.UU. n.º de serie 62/212.080, depositada el lunes, 31 de agosto de 2015.

CAMPO TÉCNICO

- 10 La presente solicitud se refiere en general a composiciones ansiolíticas que contienen magnolia, felodendron, teanina, una proteína de suero y/o s-adenosilmetionina.

ANTECEDENTES

- 15 La ansiedad, el miedo y el estrés juegan un papel importante o contribuyen de alguna manera a muchos trastornos del comportamiento de los animales humanos y no humanos. Por ejemplo, con respecto a los caninos y felinos, las fobias a las tormentas, las fobias al ruido, la evitación social, la agresión relacionada con el miedo, los trastornos compulsivos y la micción sumisa tienen componentes obvios de ansiedad, pero incluso problemas como el marcado de orina, la agresión territorial y la protección de recursos pueden ser alimentados por el miedo o la ansiedad. Los trastornos de miedo y ansiedad afectan a unos 23 millones de perros en los EE. UU. a un costo de más de 1 mil millones de \$ en tratamiento y daños a la propiedad. De los perros abandonados en los refugios, tal vez el 40 % o más son abandonados debido a problemas de comportamiento, mientras que el 14 % de los gatos se entregan debido a problemas de comportamiento. En los gatos domésticos, los problemas de comportamiento siguen siendo la causa más común de eutanasia. En una encuesta reciente de dueños de mascotas, el 41 % de los dueños de perros informaron que han tenido un perro con
- 25 problemas de ansiedad en algún momento, con el 29 % de los perros actualmente afectados. Los tipos de ansiedad más frecuentes reportados por estos propietarios incluyeron fobia al ruido (17 %), ansiedad por separación (13 %) y ansiedad generalizada (5 %).

- La ansiedad en los caballos es igualmente un problema común en la industria equina, que contribuye a problemas de
- 30 comportamiento, problemas de entrenamiento y bajo rendimiento. En algunos casos, el aumento de los niveles de ansiedad está asociado con problemas relacionados con la salud, como las úlceras gástricas, que en algunos estudios han demostrado que afectan a un gran porcentaje de caballos. Las manifestaciones de ansiedad en los caballos se ven comúnmente no solo en forma de úlceras gástricas, sino que también se expresan conductualmente en forma de dificultades de sujeción, salto, pánico, remolque, caminar en la pesebrera, balanceo, manoteo y mordedura. El factor de
- 35 riesgo más común para los trastornos de ansiedad en los perros parece ser la adquisición de refugios de animales u hogares de acogida múltiples, con hasta el 68,3 % de los perros adoptados de los refugios que muestran algún tipo de trastorno de ansiedad. Un estudio retrospectivo sobre diagnósticos de comportamiento indica posibles predilecciones de raza en dálmatas, perros de aguas de saltador ingleses, perros pastores alemanes y perros de raza mixta, mientras que otro estudio sugiere que los perros de raza cocker, schnauzers y perros salchicha pueden estar en riesgo de desarrollar
- 40 ansiedad por separación. La incidencia de los trastornos de ansiedad parece aumentar con la edad, probablemente debido a una pérdida de la función cognitiva, de una incidencia del 22,5 % en perros menores de 3 años a una incidencia del 36,5 % en perros de 8 años en adelante.

- El miedo es una respuesta emocional debido a la presencia de un estímulo específico (objeto, ruido, individuo, etc.) que
- 45 la mascota percibe como una amenaza o un peligro. En contraste, una ansiedad es una reacción de aprensión o inquietud ante un peligro o amenaza anticipado. La ansiedad, por lo tanto, puede mostrarse en ausencia de un estímulo identificable, mientras que, con el miedo, generalmente se puede identificar un estímulo. Si bien es poco probable que la ansiedad y el estrés fisiológico que la acompaña sean patológicos a corto plazo, cuando el estrés y la ansiedad se convierten en un estado crónico, la salud, el bienestar y la vida de la mascota pueden verse comprometidos. Por lo tanto, para proporcionar
- 50 una salud y bienestar óptimos para todas las mascotas, los profesionales de la salud veterinaria consideran la ansiedad como un posible estado de enfermedad adicional en los animales de compañía. En el extremo del espectro, una fobia es una respuesta de miedo profunda, excesiva y anormal que se produce sin la presencia de una verdadera amenaza o está fuera de proporción con las necesidades para enfrentar una amenaza real. Si bien los temores pueden ser respuestas adaptativas normales, las fobias son anormales, desadaptativas y generalmente interfieren con la función normal. La
- 55 ansiedad, que habita en la mitad del espectro, a menudo se pasa por alto o se malinterpreta, pero puede tener un impacto significativo en el bienestar diario de una mascota.

- Los signos clínicos de miedo y ansiedad en los perros incluyen hipervigilancia, eliminación, destrucción, vocalización excesiva, hiper salivación, jadeo, ocultación, temblor y conductas de escape. En los gatos, la ansiedad y el miedo crónicos
- 60 también pueden conducir a problemas de comportamiento secundarios, como exceso de aseo, rociado y agresión entre gatos, y pueden predisponer al gato a problemas de salud debido a un sistema inmunitario comprometido. Dado que la mayoría de los signos clínicos de miedo y ansiedad son destructivos y angustiantes tanto para la mascota como para el

dueño, uno puede entender fácilmente por qué los dueños de mascotas probablemente buscarían consejos para tales trastornos. No es coincidencia que los factores de riesgo más comunes para la renuncia a los refugios de animales y la eutanasia, tanto para perros como para gatos, incluyan suciedad en la casa, destrucción, agresión y comportamiento hiperactivo, todos posibles signos clínicos de ansiedad.

5 Los trastornos de ansiedad rara vez se producen solos, y a menudo se producen en combinación. Las fobias a tormentas y ruidos no necesariamente se producen simultáneamente; sin embargo, la fobia a las tormentas, la fobia al ruido y la ansiedad por separación se producen significativamente más a menudo juntas de lo que se esperaría si estas condiciones fueran independientes. Tal evidencia sugiere que la causa precisa de la ansiedad de una mascota podría ser difícil de
10 aislar, y podrían estar produciéndose múltiples patologías en la misma mascota.

Aunque los "desencadenantes" y la manifestación de los trastornos del comportamiento en los seres humanos pueden ser diferentes, la ansiedad, el miedo y el estrés contribuyen a los trastornos humanos. En un esfuerzo por aliviar los trastornos del comportamiento de los animales humanos y no humanos, se han desarrollado determinados fármacos
15 sintéticos. Por ejemplo, el clorhidrato de clomipramina, el clorhidrato de fluoxetina, la benzodiazepina y el maleato de acepromacina son todas composiciones de fármacos que se han utilizado en un intento de aliviar la ansiedad en seres humanos y/o animales no humanos. Si bien estos fármacos pueden proporcionar cierto alivio de la ansiedad, una desventaja significativa de estos fármacos es que pueden ser sedantes y el animal humano o no humano experimenta letargo o somnolencia. Además, muchos de estos fármacos son composiciones sintéticas, que los seres humanos pueden
20 ser reacios a ingerir o administrar a sus mascotas.

La bioquímica de la ansiedad es extremadamente complicada y, en gran medida, todavía se entiende poco. Los estudios han demostrado que casi todos los tipos de neurotransmisores y hormonas, desde la serotonina, el ácido γ -aminobutírico (GABA), el glutamato y la dopamina hasta el cortisol, la adrenalina e incluso la hormona tiroidea pueden desempeñar un
25 papel en la ansiedad. La ansiedad, en muchos sentidos, es simplemente la reacción bioquímica al estrés cerebral. Cuando algo causa algún cambio en el delicado equilibrio químico en el cerebro, la ansiedad suele ser el resultado.

El manejo ideal de la ansiedad, por lo tanto, debe ser multimodal, aumentando la probabilidad de que uno o más de los mecanismos de acción apunten y corrijan cualquier desequilibrio químico subyacente dado. Sin embargo, los productos
30 farmacéuticos comunes aprobados por la FDA, como los inhibidores de la recaptación selectiva de serotonina (ISRS), los antidepresivos tricíclicos (ATC) y las benzodiazepinas, generalmente funcionan a través de un solo mecanismo de acción.

Debido a la dificultad para rastrear las reacciones adversas a los fármacos en combinación de fármacos, la FDA se ha vuelto cada vez más reacia a aprobar fármacos con múltiples ingredientes activos. Por lo tanto, es poco probable una
35 estrategia multimodal que use solo productos farmacéuticos. Los suplementos nutricionales y herbales, que están regulados más como alimentos que fármacos por la FDA, representan un procedimiento de entrega novedoso para múltiples ingredientes, ofreciendo una oportunidad mucho mayor para el manejo multimodal de la ansiedad. Por esta y otras razones, el uso de productos naturales para animales humanos y no humanos se está volviendo cada vez más popular a medida que los consumidores buscan alternativas a los productos farmacéuticos. Algunos de estos productos
40 naturales se están incorporando en suplementos dietéticos y diversos alimentos.

A la luz de análisis anterior, existe la necesidad de una composición de producto natural que tenga propiedades ansiolíticas. Esta composición debería ayudar a mantener el comportamiento normal y facilitar un efecto calmante, sin causar letargo o somnolencia extrema. A su vez, tales composiciones deberían funcionar sinérgicamente para gestionar
45 y controlar los signos o síntomas clínicos de ansiedad.

RESUMEN

Conforme a los fines y beneficios descritos en esta invención, en un aspecto de la presente descripción se proporciona una composición ansiolítica que comprende una combinación sinérgica de L-teanina, una proteína de suero, un extracto
50 de magnolia y un extracto de felodendron. En realizaciones, la proteína de suero comprende alfa-lactoalbúmina. La composición ansiolítica proporciona un cambio ansiolítico en un patrón de liberación de uno o más neurotransmisores que incluyen ácido γ -aminobutírico (GABA) y serotonina. La composición puede formularse para la administración por vía oral a un mamífero, que incluye un ser humano, un animal de compañía y un animal equino.

55 En realizaciones, la combinación sinérgica comprende RELORA™,

En otro aspecto, se describe una composición que comprende una combinación sinérgica de L-teanina, una proteína de suero, un extracto de magnolia y un extracto de felodendron para su uso en un procedimiento para reducir, mejorar o
60 tratar los síntomas de ansiedad, que comprende la administración de la composición a un mamífero. En realizaciones, la proteína de suero se proporciona como un concentrado de proteína de suero que comprende alfa-lactoalbúmina. El procedimiento incluye además administrar oralmente la combinación sinérgica en una cantidad suficiente para

proporcionar un cambio ansiolítico en un patrón de liberación de uno o más neurotransmisores, incluyendo en una realización ácido γ -aminobutírico (GABA) y serotonina. El mamífero puede ser un ser humano, un canino, un felino o un equino.

5 En otro aspecto más, se proporciona una composición ansiolítica que comprende una combinación sinérgica de L-teanina y s-adenosilmetionina (SAME). La combinación sinérgica proporciona un cambio ansiolítico en un patrón de liberación de uno o más neurotransmisores que incluyen glutamato y ácido γ -aminobutírico (GABA). La composición puede formularse para la administración por vía oral a un mamífero. En realizaciones, el SAME comprende una sal de fitato de SAME.

10 En otro aspecto más, se proporciona una composición ansiolítica que comprende una combinación sinérgica de L-teanina, una proteína de suero y RELORA. En realizaciones, la proteína de suero comprende alfa-lactoalbúmina. En realizaciones, la proteína de suero es un concentrado de proteína de suero.

En realizaciones, la composición comprende al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos 0,5 mg de proteína de suero y al
15 menos 0,5 mg de RELORA. En otras realizaciones, la composición comprende al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos 0,5 mg de proteína de suero y al menos 3,0 mg de RELORA.

En la siguiente descripción, se muestran y describen varias realizaciones preferidas de las composiciones ansiolíticas descritas y los procedimientos asociados.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las figuras de dibujo adjuntas incorporadas en esta invención y que forman parte de la memoria descriptiva, ilustran varios aspectos de las composiciones ansiolíticas descritas, y junto con la descripción sirven para explicar ciertos principios de
25 las mismas. En los dibujos:

la figura 1 ilustra la producción basal de serotonina (5-HT) después de la administración de composiciones según la presente descripción;

30 la figura 2 ilustra la producción basal de GABA después de la administración de composiciones según la presente descripción;

la figura 3 ilustra la producción basal de glutamato después de la administración de composiciones según la presente descripción;

35 la figura 4 ilustra una comparación por pares de la producción de GABA después de la administración de una realización de una composición según la presente descripción;

la figura 5 ilustra una comparación por pares de la producción de glutamato después de la administración de la realización de la Figura 4;

40 la figura 6A ilustra los resultados de una prueba de laberinto en cruz elevado (EPM, por sus siglas en inglés) después de la administración de composiciones según la presente descripción;

45 la figura 6B ilustra una comparación por pares de la prueba EPM después de la administración de una realización de una composición según la presente descripción;

la figura 6C ilustra una comparación por pares de la prueba EMP después de la administración de otra realización de una composición según la presente descripción;

50 la figura 7A ilustra los resultados de una prueba de campo abierto (OF, por sus siglas en inglés) después de la administración de composiciones según la presente descripción;

la figura 7B ilustra una comparación por pares de la prueba OF después de la administración de una realización de una
55 composición según la presente descripción; y

la figura 7C ilustra una comparación por pares de la prueba OF después de la administración de otra realización de una composición según la presente descripción.

60 Ahora se hará referencia en detalle a realizaciones de las composiciones ansiolíticas descritas, cuyos ejemplos se ilustran en las figuras de los dibujos adjuntos.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se refiere a una o más composiciones de magnolia, felodendron, teanina, s-adenosilmetionina (SAME) y/o proteína de suero que puede ser utilizada por cualquier animal humano o no humano. En una realización, la composición incluye *Magnolia officinalis*, *Phellodendron amurense*, L-teanina y alfa-lactalbúmina. Esta combinación de materiales puede involucrar varios procedimientos bioquímicos diferentes. En consecuencia, la composición proporciona una estrategia multimodal para aliviar la ansiedad. Sin pretender estar sujeto a ninguna teoría en particular, un modo potencial es actuar sobre múltiples neurotransmisores (como glutamato o GABA), aumentar la producción de niveles de neurotransmisores como la serotonina o alterar la actividad de las ondas cerebrales.

Como antecedente adicional, *Magnolia officinalis* es una especie de *Magnolia* nativa de China. La corteza y/o extracto de la *Magnolia officinalis* incluyen honokiol y magnolol, que mejoran la actividad de los receptores GABA sinápticos y extrasinápticos en el cerebro. GABA es el neurotransmisor inhibitorio principal del cerebro que modula la actividad de las neuronas sobreexcitadas estimuladas por el miedo y la ansiedad. Se cree que la acción de estos compuestos es la unión selectiva a receptores específicos de GABA, lo que puede explicar por qué los efectos del honokiol y el magnolol son ansiolíticos, sin causar sedación.

Phellodendron amurense es una especie de árbol comúnmente llamada alcornoque de Amur. La fruta, corteza y/o extractos de felodendron son ricos en el compuesto berberina. La combinación de extractos de Magnolia más Phellodendron es sinérgica, controlando la combinación el estrés y la ansiedad de manera más efectiva que cualquiera de los compuestos utilizados solos. Generalmente, la sinergia se refiere al efecto donde una combinación de dos o más componentes proporciona un resultado que es mayor que la suma de los efectos producidos por los agentes cuando se usan solos. En realizaciones preferidas de la presente invención, el efecto sinérgico es mayor que un efecto aditivo. La sinergia observada con los extractos de Magnolia más Phellodendron puede deberse al hecho de que la berberina inhibe la liberación de glutamato por las neuronas presinápticas en la hendidura sináptica. El neurotransmisor excitador glutamato y el neurotransmisor inhibitorio GABA están modulados a nivel sináptico por la combinación. En un modelo de laboratorio, la combinación de Magnolia y Phellodendron redujo la ansiedad en beagles en un ensayo clínico controlado por placebo de ansiedad inducida por ruido. En algunas realizaciones de la presente invención, la combinación de Magnolia y Phellodendron puede administrarse como una preparación disponible en el mercado (RELORA; InterHealth Nutraceuticals, Inc., Benicia, CA).

Los neurotransmisores glutamato y GABA funcionan de forma antagonica para regular las interacciones entre las neuronas en el cerebro. El glutamato es el neurotransmisor excitador primario, lo que hace que las neuronas sean más susceptibles a los estímulos y la estimulación eléctrica. El glutamato juega un papel importante en el miedo y la ansiedad, que a menudo son el resultado de neuronas sobreestimadas. GABA es el neurotransmisor inhibitorio primario en el sistema nervioso y juega un papel igualmente esencial en el control de la ansiedad al amortiguar y/o revertir los efectos del glutamato.

La combinación de extractos de Magnolia más Phellodendron es sinérgica, controlando la combinación el estrés y la ansiedad de manera más efectiva que cualquiera de los compuestos utilizados solos. Esta sinergia se debe a los efectos que estos compuestos tienen tanto en glutamato como en GABA a nivel sináptico. Los extractos de *Magnolia officinalis*, más específicamente los constituyentes honokiol y magnolol, mejoran la actividad de los receptores GABA sinápticos y extrasinápticos en el cerebro. Los extractos de *Phellodendron amurense* contienen berberina. La berberina inhibe la liberación de glutamato por las neuronas presinápticas en la hendidura sináptica. Los extractos de Magnolia, por lo tanto, mejoran los efectos de la estabilización de GABA, mientras que la berberina de los extractos de Phellodendron bloquea la liberación de glutamato excitador.

La berberina es una sal de amonio amarillo brillante que se encuentra en *Phellodendron amurense*, y también se puede encontrar en plantas como la uva de Oregón, el agracejo, el sello de oro, el hilo de oro y la cúrcuma de árbol. La berberina generalmente se encuentra en las raíces, rizomas, tallos y corteza.

La L-teanina es un análogo estructural del aminoácido glutamato, el neurotransmisor excitador más importante del sistema nervioso. Se cree que la teanina, que se encuentra naturalmente en muchos tipos de té, ejerce efectos neuroprotectores al unir y bloquear los receptores de glutamato, reduciendo así los impulsos excitadores y disminuyendo los efectos estimulantes del glutamato. La teanina aumenta los niveles de neurotransmisores estabilizadores como la serotonina, la dopamina y el GABA en el cerebro. La teanina también estimula directamente la producción de ondas cerebrales alfa, que crean un estado de relajación profunda, vigilia y alerta mental.

La alfa-lactoalbúmina es un componente de ciertas composiciones de proteína de suero y una fuente de proteína de alta calidad que complementa los aminoácidos en los animales. La leche se ha considerado durante mucho tiempo una bebida con propiedades calmantes posprandiales, especialmente en bebés y animales jóvenes. Los primeros estudios en humanos sobre los efectos ansiolíticos de la leche se originaron en la década de 1930 y confirmaron los efectos calmantes

de ciertas proteínas en la leche. La alfa-lactoalbúmina ejerce propiedades neuroprotectoras al proporcionar precursores de aminoácidos al antioxidante glutatión (cisteína) y al neurotransmisor serotonina (triptófano) que mejora el estado de ánimo.

- 5 Dado que el cerebro consume aproximadamente el 20 % del oxígeno utilizado por el cuerpo, las especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan a tasas extremadamente altas, y las células cerebrales son especialmente propensas al daño oxidativo. La pérdida de neuronas en el cerebro maduro no puede compensarse con la generación de nuevas neuronas, por lo tanto, el desequilibrio entre la producción de ROS y antioxidantes se ha implicado en varios trastornos neurológicos. El glutatión es el antioxidante predominante en el sistema nervioso. El contenido de glutatión de las células cerebrales
10 depende en gran medida de la disponibilidad de precursores de glutatión. Los suplementos de alfa-lactoalbúmina cisteína, el precursor de aminoácidos del glutatión.

- Los niveles de serotonina cerebral aumentan bajo estrés ya que el neurotransmisor es importante para regular los estados emocionales y los estados de ánimo. El estrés crónico y la ansiedad pueden conducir a un agotamiento de las concentraciones disponibles de serotonina y su triptófano precursor, causando que la serotonina caiga por debajo de las necesidades funcionales. La alfa-lactoalbúmina contiene triptófano y una mezcla de otros aminoácidos de una fuente natural de proteínas alimentarias, y los estudios sugieren que la suplementación dietética de la alfa-lactoalbúmina mejora el rendimiento cognitivo en sujetos vulnerables al estrés a través del aumento de las actividades de triptófano y serotonina en el cerebro. En una realización, la alfa-lactoalbúmina sinergiza los efectos serotoninérgicos de los otros ingredientes en
15 la formulación, proporcionando así un modo de acción adicional.
20

- La S-adenosilmetionina (SAME) es un compuesto natural que está presente en los tejidos de todo el cuerpo. A nivel molecular, SAME está involucrado en varias vías metabólicas, incluida la transmetilación, transulfuración y aminopropilación. En el cuerpo, SAME se sintetiza a partir de un aminoácido, metionina y un nucleótido trifosfato, ATP.
25 SAME a su vez participa en la biosíntesis de numerosas moléculas biológicas, incluidas las hormonas y los neurotransmisores.

- Se ha descubierto que administrar SAME a los sujetos tiene una variedad de efectos saludables. SAME regula la expresión génica y ayuda a impedir mutaciones genéticas; mantiene la función mitocondrial; participa en la síntesis de fosfolípidos
30 y mantiene la integridad de las membranas celulares; y regula los neurotransmisores como la serotonina, la dopamina y la epinefrina (adrenalina) y las hormonas como el estrógeno y la melatonina. También se sabe que SAME inhibe la muerte de las neuronas después de la isquemia; mejorar la utilización de glucosa en el cerebro; inhibir el edema cerebral; mejora el EEG y los posibles hallazgos evocados al normalizarlos; y mejorar la función motora, como la que se ve afectada por un accidente cerebrovascular. Se ha descubierto que SAME, por ejemplo, en metaanálisis de múltiples estudios de
35 fármacos, mejora el bienestar emocional y es tan efectivo como muchos fármacos recetados comunes en el tratamiento de la depresión, pero con significativamente menos efectos secundarios que cualquiera de estos fármacos. SAME también se ha utilizado para tratar la ansiedad, el dolor crónico, la artritis, la fibromialgia reumatoide, el síndrome de fatiga crónica, las dificultades cognitivas asociadas con la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad neurovascular y las afecciones neurológicas asociadas con el SIDA. Además de las enfermedades del sistema nervioso central y periférico, se ha
40 descubierto que SAME mejora las enfermedades de las articulaciones, el sistema cardiovascular y el hígado.

- La administración de SAME inicialmente se consideró poco práctica, debido a la inestabilidad del ion SAME durante la fabricación, el envío y el almacenamiento. Eventualmente se desarrollaron sales estables de SAME (como el disulfato de tosilato de SAME, la sal de butanodisulfonato de SAME, la sal de disulfato de di-para-toluenosulfonato de SAME, la sal de
45 ácido tri-para-toluenosulfónico de SAME, la sal de butanodisulfonato de SAME y la sal de disulfato de p-toluenosulfonato de SAME). En algunas realizaciones ejemplares de la presente invención, SAME se administra como una sal SAME comercial de ácido fítico.

- El experto en la materia apreciará que la composición de *Magnolia officinalis*, *Phellodendron amurense*, L-teanina y proteína de suero pueden incluir cualquier cantidad de cada ingrediente. Los ingredientes también pueden ser concentrados, como un concentrado de proteína de suero. Además, la composición puede ser utilizada por sujetos humanos o animales no humanos (por ejemplo, mamíferos, aves, peces, reptiles, etc.).
50

- En una realización, la composición para animales no humanos puede contener entre 0,5 y 3 mg de *Magnolia officinalis*
55 0,03-0,2 mg de *Phellodendron amurense*, 17,0-450 mg de L-teanina, y 12,0-100 mg de alfa-lactoalbúmina. Sin embargo, en otra realización, la composición para animales no humanos puede contener entre 0,01 mg-10 g de *Magnolia officinalis* 0,01mg-10g de *Phellodendron amurense*, 0,01 mg-10 g de L-teanina y 0,01 mg-10 g de alfa-lactoalbúmina.

- En una realización, la composición puede contener al menos 0,5 mg de RELORA, al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos
60 0,5 mg de proteína de suero y al menos 1,5 mg de SAME.

En una realización, la composición para animales no humanos tales como caninos puede contener al menos 6,0 mg de

RELORA, al menos 3,0 mg de L-teanina, al menos 1,0 mg de proteína de suero y al menos 3,0 mg de SAME.

En una realización, la composición para animales no humanos tales como felinos puede contener al menos 3,0 mg de RELORA, al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos 0,5 mg de proteína de suero y al menos 1,0 mg de SAME.

5

En una realización, la composición para animales no humanos tales como animales equinos puede contener al menos 20,0 mg de RELORA, al menos 15,0 mg de L-teanina, al menos 5,0 mg de proteína de suero y al menos 10,0 mg de SAME.

10 En una realización, la composición para seres humanos puede contener al menos 20,0 mg de RELORA, al menos 15,0 mg de L-teanina, al menos 5,0 mg de proteína de suero y al menos 10,0 mg de SAME.

En una realización para animales de compañía tales como caninos o felinos, la composición comprende 37 mg de RELORA, 17 mg de L-teanina y 12 mg de proteína de suero en una sola forma de dosificación.

15

En una realización para animales de compañía tales como caninos o felinos, la composición comprende 75 mg de RELORA, 35 mg de L-teanina y 25 mg de proteína de suero en una sola forma de dosificación.

20 En una realización para animales de compañía tales como caninos o felinos, la composición comprende 450 mg de RELORA, 205 mg de L-teanina y 100 mg de proteína de suero en una sola forma de dosificación.

En una realización para animales de compañía tales como caninos o felinos, la composición comprende 0,5 mg de extracto de *Magnolia officinalis*, 0,03 mg de extracto de *Phellodendron amurense*, 17 mg de L-teanina y 12 mg de alfa-lactoalbúmina en una sola forma de dosificación.

25

En una realización para animales equinos, la composición comprende 750 mg de RELORA, 150 mg de L-teanina, 1000 mg de proteína de suero.

30 En una realización para animales equinos, la composición comprende 1500 mg de RELORA, 300 mg de L-teanina, 1000 mg de proteína de suero.

Se apreciará que cualquier combinación de magnolia, felodendron, teanina y/o proteína de suero (o alfa-lactoalbúmina) puede combinarse. Por ejemplo, en una realización, la composición comprende extracto de magnolia y alfa-lactoalbúmina, sin felodendron o teanina. Alternativamente, la composición puede incluir extracto de felodendron y alfa-lactoalbúmina sin magnolia o teanina. Una vez más, se puede proporcionar cualquier componente único de magnolia, felodendron, teanina y/o proteína de suero (o alfa-lactoalbúmina) que proporcione la respuesta deseada o cualquier combinación de múltiples componentes. La formulación también puede incluir varios otros flavonoides, ácidos grasos omega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), valeriana, SAME, otras proteínas de la leche u otras proteínas de la leche (como la caseína trípica alfa-S1) o productos que contiene proteínas de la leche, y/o *Sceletium tortuosum*.

40

La composición puede combinarse de cualquier manera y presentarse al animal humano o no humano en cualquier forma combinada. En una realización, la composición comprende una forma de dosificación unitaria, que incluye pero no se limita a formas de dosificación farmacéutica adecuadas para oral, rectal, intravenosa, subcutánea, intramuscular, transdérmica, transmucosa y tópica.

45

En una realización, la composición comprende una forma de dosificación administrable por vía oral. Los ejemplos de formas de dosificación administrables por vía oral incluyen, pero no se limitan a un comprimido, cápsula, polvo que se puede dispersar en un líquido o espolvorear sobre alimentos, un líquido como una solución, suspensión o emulsión, una cápsula de gel/ masticar suave, una barra masticable u otra forma de dosificación conveniente conocida en la técnica. En algunas realizaciones, la composición comprende un comprimido, cápsula o tratamiento masticable suave. Las formas de dosificación administrables por vía oral pueden formularse para liberación inmediata, liberación prolongada o liberación retardada. La composición puede estar revestida o no revestida.

50

Ejemplo 1. Evaluación de los patrones de liberación de neurotransmisores en muestras de dializado del hipocampo de ratones C57B1/6 después de un tratamiento de 7 días con una composición ansiolítica.

55

Los patrones de liberación de neurotransmisores en el cerebro se midieron mediante un procedimiento que consistía en insertar una sonda en la región del hipotálamo (sonda de microdiálisis) de un animal de laboratorio y enjuagar la sonda mediante diálisis con un líquido cefalorraquídeo artificial (LCR). Este es un procedimiento aceptado y común utilizado para obtener y medir *in vivo* niveles cerebrales de neurotransmisores y otras proteínas pequeñas.

60

El líquido que se recoge representa el líquido extracelular o intersticial que se encuentra en la región del hipocampo del

cerebro. Esta área es generalmente el área preferida y típica para el análisis de microdiálisis porque se cree que cualquier cambio medido en esta área del cerebro corresponde aproximadamente con el 80 % del tejido cerebral completo. Los niveles de neurotransmisores en el líquido representan un equilibrio complejo entre la liberación de estos neurotransmisores por las neuronas presinápticas, la recaptación de estos neurotransmisores en las neuronas, así como cualquier interacción entre los neurotransmisores. Por lo tanto, los resultados indican cómo los compuestos y sus combinaciones afectan la neuroquímica cerebral.

Para la evaluación, los ratones machos C57Bl se dividieron en grupos (6 por grupo) y se les administró una variedad de compuestos o un placebo por vía oral durante siete días. El día 6, cada ratón se anestesió y se insertó una sonda de microdiálisis en la región del hipocampo del cerebro. El muestreo de microdiálisis comenzó el día después de la cirugía, con cada sonda conectada a una bomba de microperfusión y perfundida con un LCR artificial. Se tomaron muestras en alícuotas de 30 minutos comenzando 90 minutos antes de la dosificación de cada compuesto en el 7° día. A continuación, se analizó cada alícuota para determinar la cantidad de GABA, glutamato y serotonina (5-HT) en cada muestra. El análisis de los neurotransmisores se realizó en dos etapas en un intento de identificar los efectos crónicos y agudos de cada compuesto.

En los resultados descritos, el compuesto A es L-teanina; el compuesto B es una composición que comprende un extracto de *Magnolia officinalis* y un extracto de *Phellodendron amurense*; el Compuesto C es una proteína de suero de leche que comprende alfa-lactoalbúmina, el compuesto D es SAME; y el compuesto E es glutatión. En realizaciones, el compuesto B se proporcionó como una preparación disponible en el mercado (RELORA; InterHealth Nutraceuticals, Inc., Benicia, CA). En realizaciones, el compuesto C se estandarizó a 80 % de alfa-lactoalbúmina. En realizaciones, el compuesto D se proporcionó como una sal de fitato SAME disponible en el mercado. El compuesto A se administró a una dosis de 6,66 mg/kg. El compuesto B se administró a una dosis de 12,5 mg/kg. El compuesto C se administró a una dosis de 2,36 mg/kg. El compuesto D se administró a una dosis de 6,02 mg/kg. El compuesto E se administró a una dosis de 13,6 mg/kg. Las dosis equivalentes para la extrapolación de especies cruzadas pueden ser calculadas por un experto en la materia usando procedimientos de conversión de dosis convencionales.

Producción basal de neurotransmisores.

Primero, se midieron los niveles de producción basal de cada neurotransmisor para determinar cualquier efecto crónico a largo plazo de cada compuesto sobre los neurotransmisores. Los niveles basales representan los niveles más bajos de cada neurotransmisor en un ciclo de 24 horas. Estos niveles se determinaron promediando los niveles de cada neurotransmisor en las tres partes alícuotas de 30 minutos antes de la administración de la 7ª dosis diaria (muestra -90 min a -60, muestra -60 minutos a -30 y muestra -30 minutos a tiempo 0). Los niveles basales se midieron como una representación de los efectos crónicos de los compuestos sobre los niveles de los neurotransmisores, es decir, midiendo cuál debería ser el efecto más bajo observado antes de una nueva dosis. Para determinar los efectos agudos de estos compuestos, los niveles de cada neurotransmisor se analizaron a continuación en las alícuotas después de la dosificación durante hasta 3 horas y media (210 minutos) después de la administración 7ª diaria de cada compuesto/combinación.

La producción basal de serotonina (5-HT), GABA y glutamato se midió después de 6 días de administración de cada uno de los componentes individuales de la composición descrita, así como la combinación de ingredientes. La concentración media de cada neurotransmisor se comparó a continuación con la producción basal media medida en el grupo placebo utilizando una prueba t de Student para determinar si los dos conjuntos de datos son significativamente diferentes.

Con respecto a la serotonina, individualmente ninguno de los compuestos evaluados tuvo un efecto estadísticamente significativo (valor $p < 0,05$) en la producción basal de serotonina (véase la figura 1). Es decir, por ejemplo, individualmente ninguna de L-teanina, Relora ni proteína de suero de leche tuvo ningún efecto significativo sobre los niveles basales de serotonina. Por otro lado, la combinación de los compuestos A + B + C (teanina + magnolia/felodendron + proteína de suero de leche), sin embargo, tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre los niveles basales de serotonina ($p < 0,05$). La combinación de L-teanina y proteína de suero de leche (A + C) también redujo significativamente los niveles basales de serotonina. Estos resultados demuestran un efecto sinérgico inesperado en los niveles de serotonina cerebral de la combinación.

Las combinaciones de teanina/magnolia/felodendron (A + B) y L-teanina y proteína de suero de leche (A + C) produjeron un aumento inesperado y sinérgico en los niveles de GABA (véase la figura 2). Asimismo, la combinación de teanina y SAME (A + D) aumentó significativamente la producción basal de GABA.

Para la producción basal de glutamato (véase la figura 3), la combinación de teanina /magnolia/felodendron (A + B) mostró un aumento. Asimismo, la combinación de teanina y SAME (A + D) aumentó significativamente la producción basal de glutamato.

Producción aguda de neurotransmisores

Tras la administración de la 7^a dosis de cada compuesto y/o combinación, se recogieron alícuotas de LCR en incrementos de 30 minutos hasta 210 minutos después de la dosificación. La concentración de neurotransmisores en cada parte alícuota representa cambios agudos a corto plazo en los niveles que pueden no estar representados en los resultados de la producción basal.

Los resultados se trazan en gráficos donde el eje x representa el tiempo después de la administración de la 7^a dosis diaria, mientras que el eje y representa un aumento/disminución del % de la producción basal encontrada en la parte anterior del estudio. Esta medida se usa porque las concentraciones reales de neurotransmisores pueden variar significativamente entre un sujeto y otro. Este procedimiento permite una estandarización de los datos y, en esencia, permite que cada animal sirva como su propio control individual. Los resultados se analizaron a continuación utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para detectar cualquier efecto del tratamiento estadísticamente significativo.

Al observar primero los efectos agudos de estos compuestos en GABA, no se observaron efectos de tratamiento estadísticamente significativos a través de ANOVA ($p < 0,05$) para los compuestos individuales A, B o C en comparación con el placebo durante el período de prueba. Sin embargo, hubo un efecto significativo del tratamiento de la combinación de ingredientes (A + B + C) en comparación con el placebo cuando se analizó mediante ANOVA, como se ve en la figura 4. Por lo tanto, estos resultados indican que existe un efecto sinérgico significativo sobre GABA con la combinación de L-teanina y magnolia/felodendron y proteína de suero de leche (A + B + C), mientras que cada componente individual por sí solo no tiene ningún efecto.

Con respecto al glutamato, ni los componentes individuales (A, B, C) ni la combinación (A + B + C) tuvieron un efecto de tratamiento inmediato sobre los niveles de glutamato. Sin embargo, los resultados demostraron una tendencia que indica un efecto del tratamiento por la combinación (A + B + C) 120 a 210 minutos después de la administración (véase la figura 5). El experto en la materia apreciará que los cambios en los niveles de glutamato son uno de los cambios de neurotransmisores más difíciles de provocar.

Ejemplo 2. Evaluación de las propiedades ansiolíticas de las composiciones descritas mediante pruebas de comportamiento.

Las ratas Wistar (16 por grupo) se dosificaron con componentes individuales (L-teanina, magnolia/felodendron y proteína de suero de leche) o varias combinaciones de los tres, incluida la combinación de tres vías (teanina + magnolia/felodendron + proteína de suero de leche). La combinación de magnolia/felodendron se proporcionó como una preparación disponible en el mercado (RELORA; InterHealth Nutraceuticals, Inc., Benicia, CA). La proteína de suero de leche administrada se estandarizó a 80 % de alfa-lactoalbúmina. Las ratas se dosificaron diariamente durante 14 días, y a continuación se realizaron una serie de ensayos de comportamiento para detectar cualquier efecto ansiolítico en las ratas o efectos sedantes. Los grupos de tratamiento fueron de la siguiente manera:

- 1: L-teanina + magnolia/felodendron
- 2: L-teanina + proteína de suero de leche
- 3: magnolia/felodendron + proteína de suero de leche
- 4: L-teanina + magnolia/felodendron + proteína de suero de leche
- 5: L-teanina
- 6: magnolia/felodendron
- 7: Proteína de suero de leche

Los animales se colocaron en los siguientes grupos:

Número de grupo	Tratamiento	Dosis diaria	Concentración de la dosis	Volumen de la dosis	Vía de dosificación	# total de animales
1	N.º 1	50 mg/kg	10 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
2	N.º 2	24 mg/kg	4,8 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂

Número de grupo	Tratamiento	Dosis diaria	Concentración de la dosis	Volumen de la dosis	Vía de dosificación	# total de animales
3	N.º 3	42 mg/kg	8,4 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
4	N.º 4	58 mg/kg	11,6 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
5	N.º 5	16 mg/kg	3,2 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
6	N.º 6	34 mg/kg	6,8 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
7	N.º 7	8 mg/kg	1,6 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂
8	Vehículo (agua estéril)	0 mg/kg	0 mg/ml	5 ml/kg	PO	16 ♂

Prueba de laberinto en cruz elevado

El laberinto en cruz elevado (EPM) aprovecha la aversión natural (ansiedad característica) de los roedores en áreas iluminadas, abiertas y elevadas. El EPM tiene una capacidad predictiva muy fuerte y a menudo se usa para perfilar la actividad ansiolítica potencial de los compuestos. Durante esta prueba, las ratas se graban en video después de colocarlas en el laberinto elevado. Los videos se analizan para determinar el % de tiempo que las ratas permanecen en las porciones abiertas y elevadas del laberinto. Se presume que las ratas que pasan más tiempo en los brazos abiertos están menos ansiosas. La Tabla 1 a continuación representa la cantidad promedio de tiempo que cada rata pasó en los brazos abiertos del laberinto.

Tabla 1.

Tratamiento	% de tiempo medio en brazos abiertos \pm SEM
Vehículo	10 \pm 2
1	19 \pm 3
2	15 \pm 2
3	18 \pm 3
4	13 \pm 3
5	13 \pm 2
6	12 \pm 3
7	11 \pm 2

En este estudio, las ratas administradas con la combinación de ingredientes en el tratamiento 4, pasaron, en promedio, 3 minutos más en los brazos abiertos del laberinto que las ratas administradas con un placebo (véase la figura 6A), lo que indica un efecto ansiolítico de los compuestos. De manera similar, la combinación de L-teanina/proteína de suero de leche (tratamiento 2) pasó, en promedio, 5 minutos más en los brazos abiertos del laberinto que las ratas administradas con un placebo (véase la figura 6), lo que indica un efecto ansiolítico de los compuestos. Las combinaciones de L-teanina/magnolia/felodendron (tratamiento 1) y magnolia/felodendron/proteína de suero de leche (tratamiento 3) mostraron un efecto estadísticamente significativo en las comparaciones por pares post hoc (ambas en $p < 0,05$; véase las figuras 6B y 6C, respectivamente).

Actividad de campo abierto como medida de sedación

La actividad locomotora en una prueba de campo abierto es una buena medida de las propiedades sedantes de un compuesto. Como un ejemplo, un efecto secundario notable de muchos compuestos ansiolíticos como las benzodiacepinas es la sedación marcada junto con la administración. Estos productos son ansiolíticos bastante efectivos, pero los pacientes a menudo sufren los efectos indeseables de la sedación.

Esta prueba se realiza colocando una rata en un recinto abierto y bien iluminado. Las ratas se graban en video y la distancia total que recorre la rata durante el período de prueba se registra como un indicador de la actividad locomotora. Las ratas sedadas viajarán menos, mientras que las ratas activas viajarán distancias totales más lejanas.

5 Tabla 2.

Tratamiento	Distancia media (cm) ± SEM
Vehículo	9062 ± 597
1	11735 ± 447
2 ^a	10887 ± 1055
3	11068 ± 814
4	9833 ± 789
5	9971 ± 652
6	10224 ± 635
7	10191 ± 643

^a Una rata eliminada del análisis debido a un seguimiento de video inexacto

Los resultados presentados en la tabla 2 y la figura 7A indican que ninguno de los compuestos/combinaciones administrados parece tener un efecto sedante sobre la actividad locomotora de las ratas. Todas las ratas fueron más activas que el placebo, lo que indica un mayor deseo de explorar e investigar, y de hecho las comparaciones por pares *post hoc* indicaron una tendencia hacia una mayor actividad locomotora, particularmente para el tratamiento 1 [$t(30) = 3,58, p < 0,01$; prueba t] y el tratamiento 3 [$t(30) = 1,99, p = 0,06$; prueba t] (véanse las figuras 7B y 7C). Se cree que los compuestos que tienen un efecto ansiolítico sin sedación son candidatos extremadamente deseables para el tratamiento de la ansiedad.

En consecuencia, por los resultados anteriores se apreciará que se proporciona una composición efectiva adecuada para la administración por vía oral que en diversas realizaciones afecta a la neuroquímica cerebral como se muestra por alteraciones en los patrones de liberación de diversos neurotransmisores. A su vez, varias evaluaciones de comportamiento demostraron un efecto ansiolítico de diversas realizaciones de las composiciones descritas. Si bien los compuestos individuales de las composiciones descritas no tuvieron efecto sobre la neuroquímica o el comportamiento del cerebro, sorprendentemente se observó un efecto sinérgico de las composiciones.

REIVINDICACIONES

1. Una composición ansiolítica, que comprende una combinación sinérgica de L-teanina, una proteína de suero, un extracto de magnolia y un extracto de felodendron.
5
2. La composición ansiolítica de la reivindicación 1, donde la proteína de suero comprende alfa-lactoalbúmina.
3. La composición ansiolítica de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde la proteína de suero es un concentrado de proteína de suero.
10
4. La composición ansiolítica de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la combinación sinérgica proporciona un cambio ansiolítico en un patrón de liberación de uno o más neurotransmisores seleccionados de entre el grupo que consiste en ácido γ -aminobutírico (GABA) y serotonina.
- 15 5. La composición ansiolítica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, formulada para la administración por vía oral a un mamífero.
6. La composición ansiolítica de la reivindicación 5, donde el mamífero se selecciona de entre el grupo que consiste en un ser humano, un animal de compañía y un animal equino.
20
7. La composición ansiolítica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el extracto de magnolia y el extracto de felodendron se proporcionan en combinación como RELORA.
8. La composición ansiolítica de la reivindicación 7, donde la composición comprende al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos 0,5 mg de proteína de suero y al menos 0,5 mg de RELORA.
25
9. La composición ansiolítica de la reivindicación 8, donde la composición comprende al menos 2,0 mg de L-teanina, al menos 0,5 mg de proteína de suero y al menos 3,0 mg de RELORA.
- 30 10. La composición ansiolítica de cualquiera de las reivindicaciones anteriores para su uso en la reducción, mejora o tratamiento de síntomas de ansiedad en un mamífero.
11. La composición ansiolítica para su uso de la reivindicación 10, donde el mamífero es un canino, un felino o un equino.
35
12. Una composición ansiolítica, que consiste en una combinación sinérgica de L-teanina y s-adenosilmetionina (SAME).
13. La composición ansiolítica de la reivindicación 12, donde la combinación sinérgica proporciona un cambio ansiolítico en un patrón de liberación de uno o más neurotransmisores seleccionados de entre el grupo que consiste en glutamato y ácido γ -aminobutírico (GABA).
40
14. La composición ansiolítica de la reivindicación 12 o la reivindicación 13, formulada para la administración por vía oral a un mamífero.
45
15. La composición ansiolítica de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, donde las-adenosilmetionina (SAME) comprende una sal de fitato SAME.

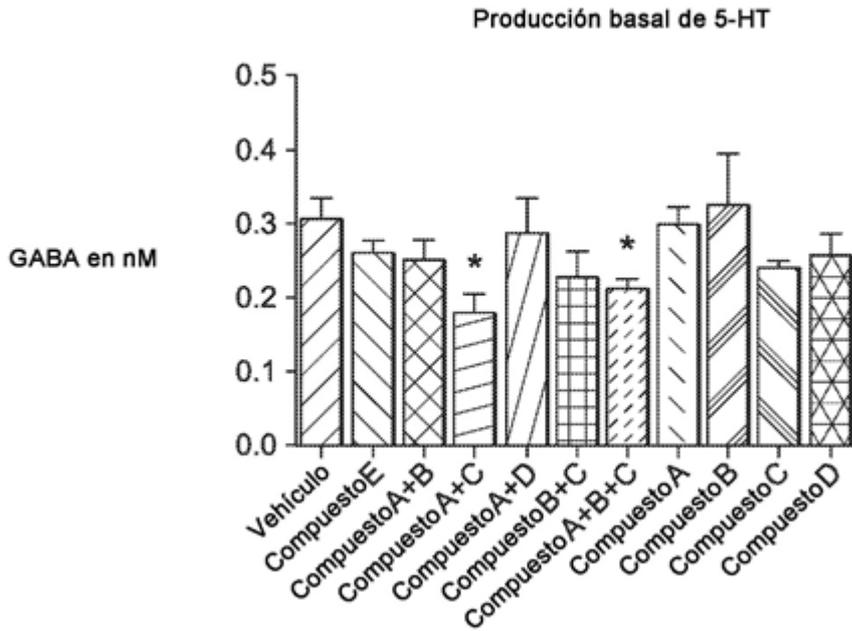


FIG. 1

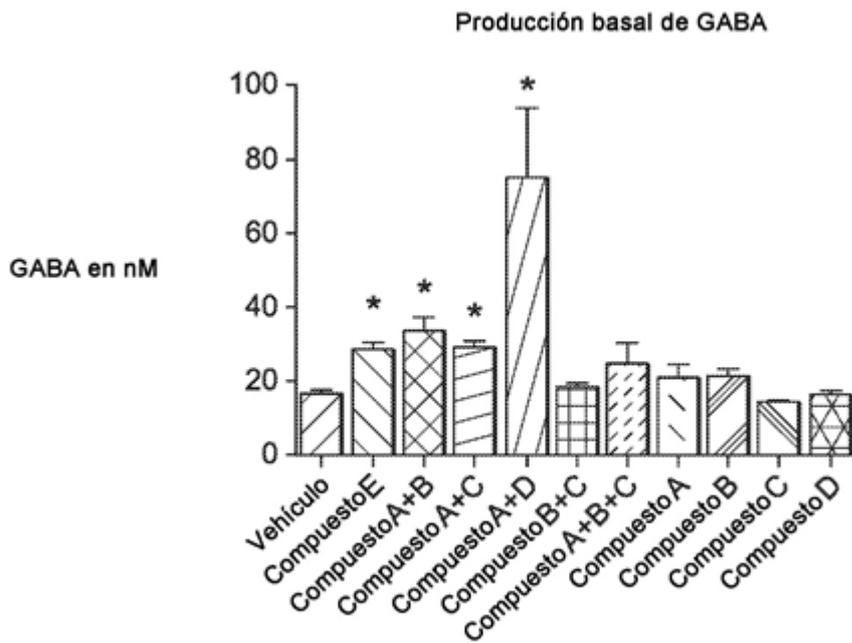


FIG. 2

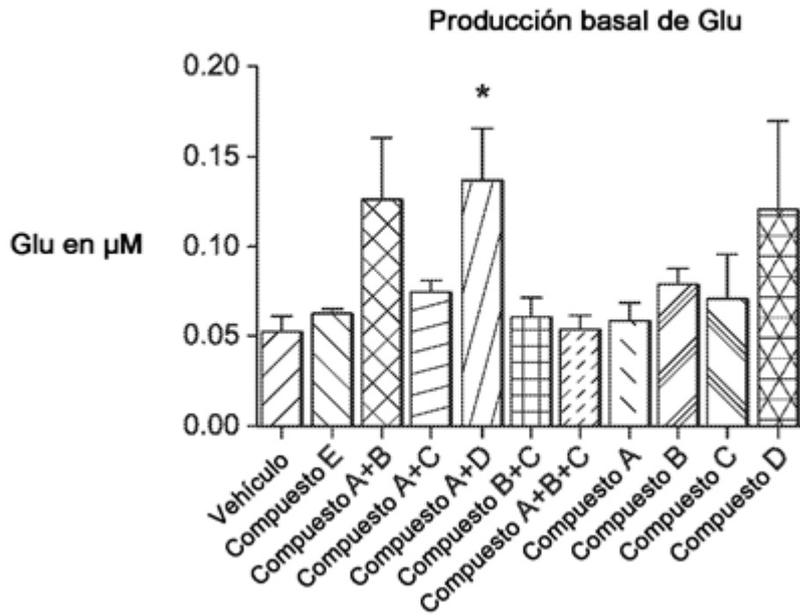


FIG. 3

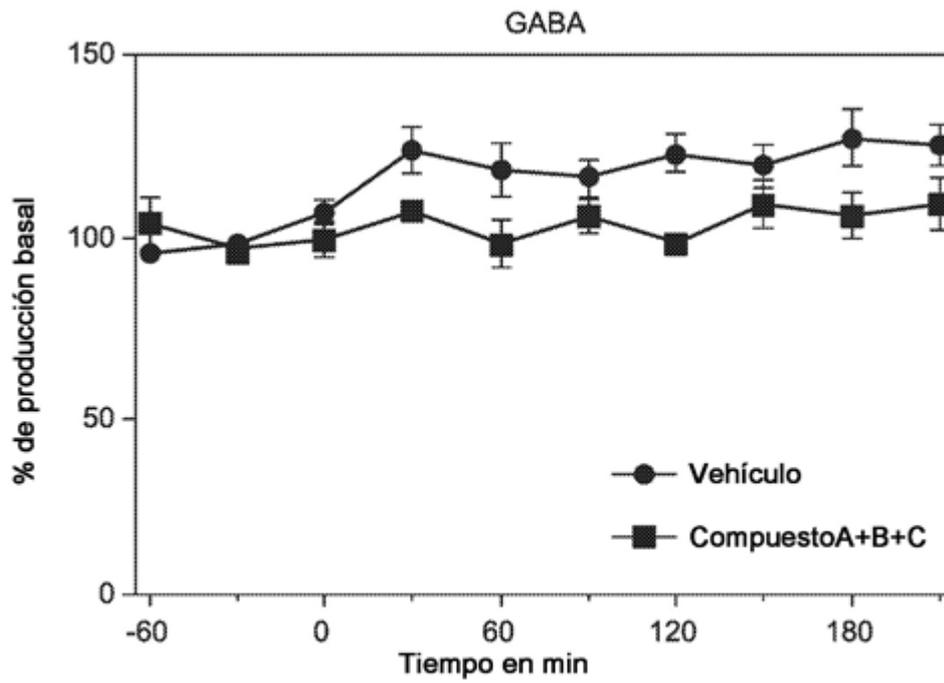


FIG. 4

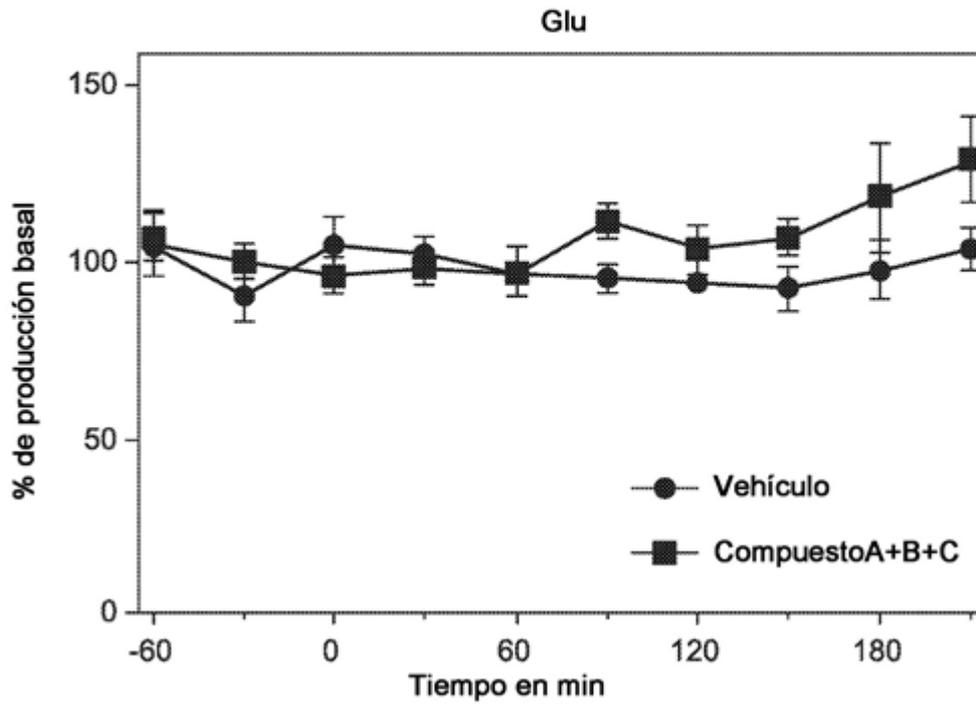


FIG. 5

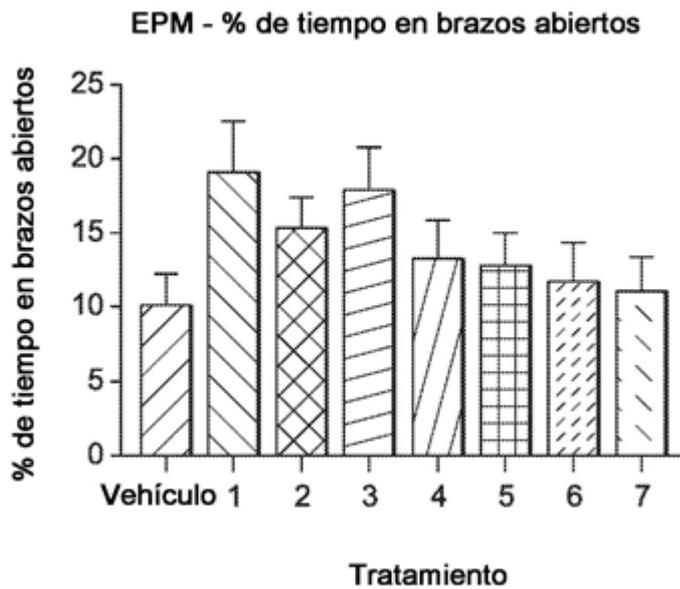


FIG. 6A

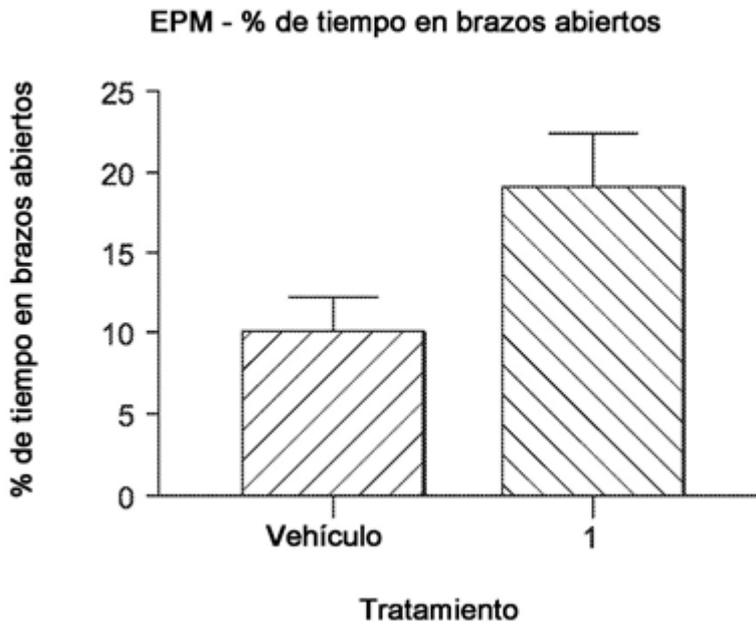


FIG. 6B

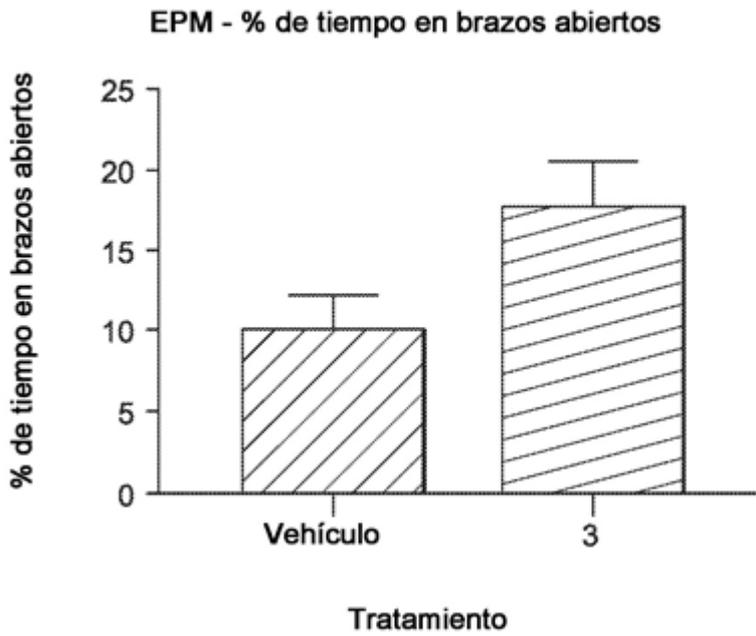


FIG. 6C

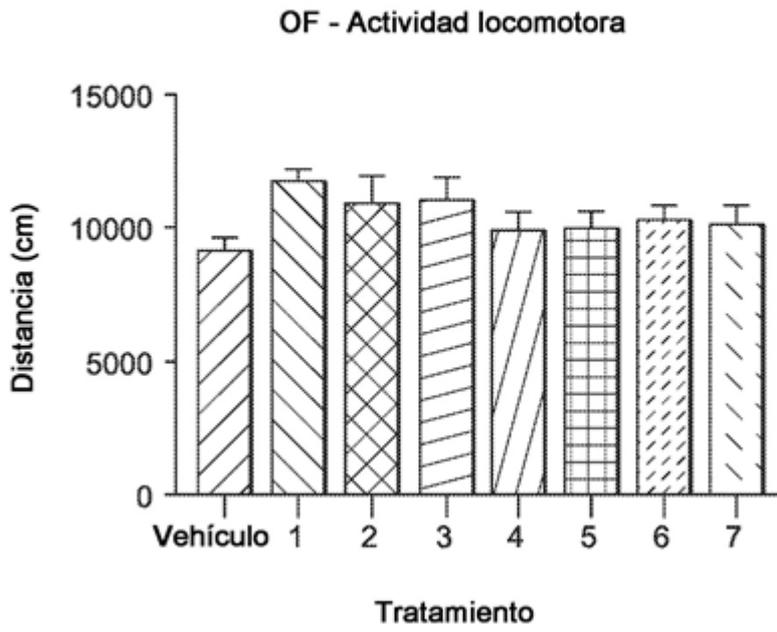


FIG. 7A

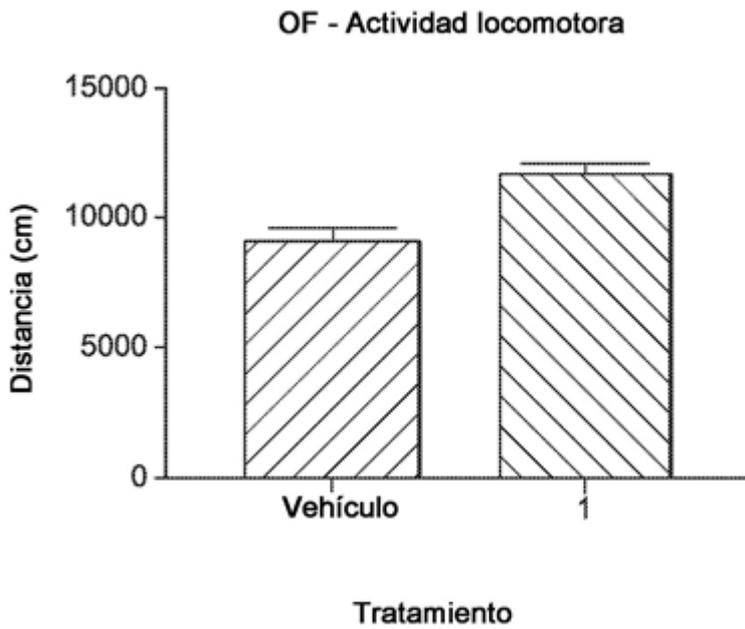


FIG. 7B

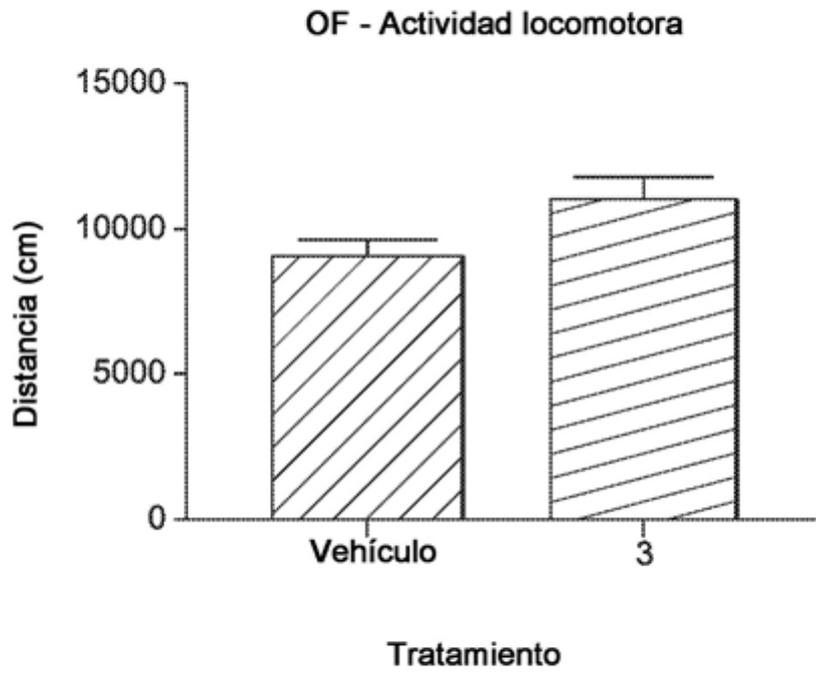


FIG. 7C