



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

PGT

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITANTE
PATENTE DE



10-133917

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO

MÉTODOS Y USO DE INDUCCIÓN DE ADOPTOSIS EN CELULAS
CANCERIGENAS

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

CYTOTECH LABS, LLC

DOMICILIO

NASHVILLE, TENNESSEE, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

74. APODERADO

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

22. BOGOTÁ, D.C.,



PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133917- -00000-0000

Fecha: 2010-10-28 12:54:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 119

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

- 1 ☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

2
SOLICITANTE
(71)

Nombre: CYTOTECH LABS, LLC
sociedad constituida y existente bajo las
leyes del Estado de , Estados Unidos
de América.

Dirección: 1845 Elm Hill Pike,
Nashville,
Tennessee 37210,
Estados Unidos de América

Domicilio: Nashville,
Tennessee, 37210,
Estados Unidos de América

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número _____

3
REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número 35.456.344 T.P 23.555

4
INVENTOR (ES)
(72)

1. Niven Rajin NARAIN
14519 Grand Cove Drive,
Orlando,
Florida 32837,
Estados Unidos de América

2. Indushekhar PERSAUD
16830 SW 240th Street,
Homestead,
Florida 33031,
Estados Unidos de América

3. John Patrick MCCOOK
4913 Southern Hills Drive,
Frisco,
Texas 75034,
Estados Unidos de América

5
PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2009/039992 Fecha: 9 de abril de 2009
Publicación Internacional No. WO 2009/126764 A1 Fecha: 15 de octubre de 2009

6
Título (54)

MÉTODOS Y USO DE INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS

7

Clasificación Internacional (51) A61K 031/122 A61P 35/00
A61K 9/127

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

11 de abril de 2008

(31) Número de Solicitud

61/044,085

9

Comprobante de pago No.: 10-85,488
Comprobante de pago No.: 10-87,940

Fecha: 11 de octubre de 2010
Fecha: 20 de octubre de 2010

Nuevo Título ⇒ MÉTODO PARA INDUCIR APOPTOSIS EN UNA CÉLULA CANCERÍGENA POR EL SUPLENISTRO DE COENZIMA Q10 EXÓGENA Y SUS METABOLITOS

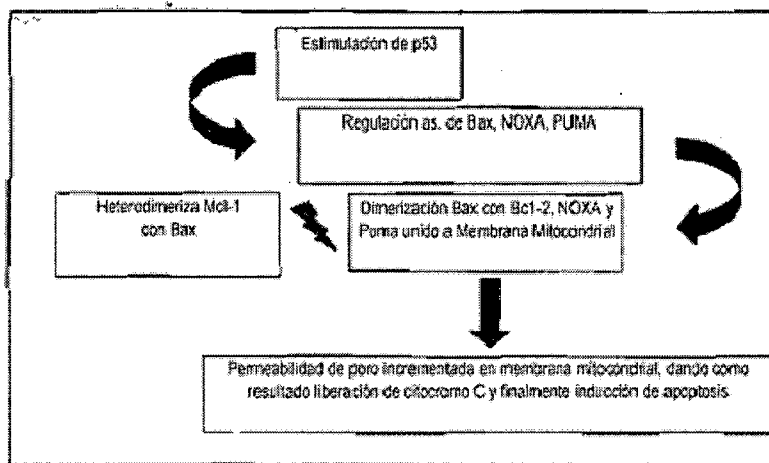
2

10

Anexos:

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 554.000.00.
- ☒ Comprobante de pago por 9 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$234.000.00.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.
- ☒ Arte final 12x12
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS

11

FIGURA CARACTERÍSTICA**Figura 2**

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE:LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ**FIRMA:**Luz Clemencia Solórzano
C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2009/126764 A1

Descripción:

Páginas 32 en el idioma original

Páginas 38 en español

Reivindicaciones: Número (s) 19

Figuras: Número (s) 26

2. ☒ **Forma PCT/ISA/210.** Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ **Forma PCT/IB/306.** notificación de la inscripción del cambio de Agente.

4. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA
FASE INTERNACIONAL**

4

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
15 October 2009 (15.10.2009)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2009/126764 A1

(51) International Patent Classification:
A61K 31/122 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61K 9/127 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2009/039992

(22) International Filing Date:
9 April 2009 (09.04.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/044,085 11 April 2008 (11.04.2008) US

(71) Applicant (for all designated States except US): CY-
TOTECH LABS, LLC [US/US]; 1845 Elm Hill Pike,
Nashville, TN 37210 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): NARAIN, Niven,
Rajin [GY/US]; 14519 Grand Cove Drive, Orlando, FL
32837 (US). PERSAUD, Indushekhar [US/US]; 16830
SW 240th Street, Homestead, FL 33031 (US). MC-
COOK, John, Patrick [US/US]; 4913 Southern Hills
Drive, Frisco, TX 75034 (US).

(74) Agents: BREW, Michael, R. et al.; Carter, Deluca, Far-
rell & Schmidt, LLP, 445 Broad Hollow Road - Suite
420, Melville, NY 11747 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, IE, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO,
NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,
MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

(54) Title: METHODS AND USE OF INDUCING APOPTOSIS IN CANCER CELLS

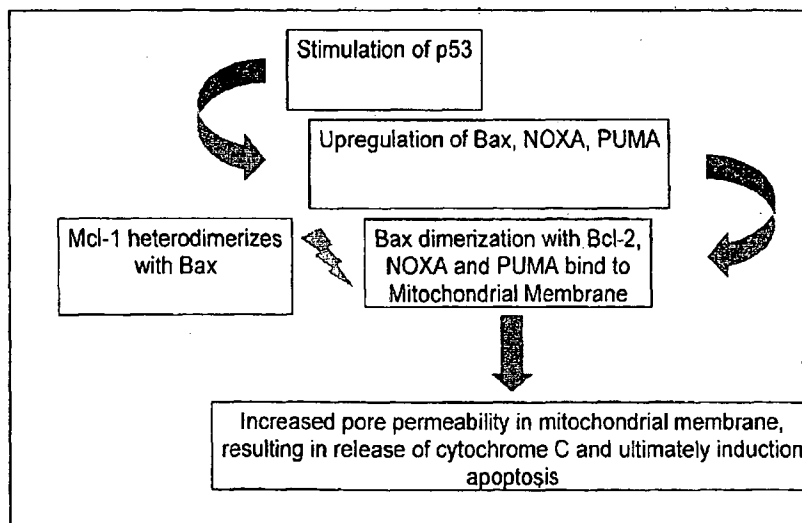


Figure 2

(57) Abstract: The present disclosure relates to a method of inducing apoptosis in a cancer cell by delivery of exogenous Coenzyme Q10 or its metabolites thereof in a pharmaceutically acceptable carrier to effectuate cell contact of endogenous Coenzyme Q10 or its metabolites thereof in addition to but not limited to mevalonic acid and oleic acid to form an intracellular complex. The present disclosure also provides a method of modulating the p53 pathway and Bcl-2 protein family in a manner that restores the apoptotic potential to a cancer cell by delivery of Coenzyme Q10 in a pharmaceutically acceptable carrier. The present disclosure further provides a method to specifically normalize the ratio of pro-apoptotic and anti-apoptotic members of the Bcl-2 gene family in a proportion to re-program a cancer cell to undergo apoptosis.

WO 2009/126764 A1

METHODS AND USE OF INDUCING APOPTOSIS IN CANCER CELLS

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS

[0001] This application claims the benefit of and priority to U.S. Provisional Application Serial No. 61/044,085, filed April 11, 2008, the entire disclosure of which is incorporated by reference herein.

BACKGROUND

[0002] Programmed cell death (apoptosis) is integral to the sustenance of life as the constant renewal of tissue provides the physiologic scaffold for regenerative metabolism. Apoptosis facilitates the homeostatic balance of cellular renewal allowing for overall tissue health, so that the integrity of proliferative, immunomodulatory, and angiogenic components of tissue metabolism are maintained. A dysregulation in any one of, or a combination of, the aforementioned processes may result in a lack of apoptotic control. Such lack of apoptotic control, optionally in combination with genetic mutations, may result in a favorable oncogenic environment.

[0003] Under healthy conditions, the genome's "watchman," p53, recognizes when a cell's integrity is compromised and commits it to apoptosis via employment of the Bcl-2 protein family in the mitochondria leading to nuclear fragmentation. See, e.g., Selivanova, et al., "Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential," *Oncogene* (2007) 26, 2243–2254.

[0004] Moreover, the balance of the "pro" and "anti" apoptotic members of the Bcl-2 protein family may determine the overall apoptotic potential for a cell. In over 60% of all cancers, p53 is mutated or inactivated and the Bcl-2 protein is overexpressed, leading to a resistance to cell death and chemotherapeutic approaches.

[0005] It has been shown that cancer patients have an overall decreased serum level of CoQ10 which may lead to sign and symptoms of malaise, weakness, and lethargy, especially when using chemotherapeutic modalities. See, e.g., Okamoto, et al. "Serum levels of coenzyme Q10 and lipids in patients during total parenteral nutrition," J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), (1986) Feb; 32(1):1-12. Studies from the University of Miami using an athymic mouse model have demonstrated that a liposomal formulation of CoQ10 reduced human melanoma tumors by 53.2% in 30 days while an overall attenuation of tumor angiogenesis was observed. See, e.g., Persaud, et al., "Attenuation of tumor angiogenesis in murine melanoma model using liposomal formulation of Coenzyme Q10," Proceedings of the American Association for Cancer Research, (2006); 47:A977. In addition, it was subsequently shown that the effect of CoQ10 was mediated by a downregulation of the Bcl-2 protein. See, e.g., Narain, et al., "Coenzyme Q10: A novel Bcl-2 drug target for the treatment of melanoma," Proceedings of the American Association for Cancer Research, (2006); 47:A791.

[0006] Drugs have been developed to target the Bcl-2 protein family either by direct antibody inhibition or by the use of specific constructs that interfere with binding, which may lead to dimerization or oligomerization, in an effort to restore the balance of the pro- and anti-apoptotic proteins. See, e.g., U.S. Patent Nos. 6,514,761 and 6,040,181. However, this does not fundamentally alter the upstream levels of the major apoptotic members of the Bcl-2 protein family, such as Bcl-2, Bax, and Bid, following a re-activation of p53 which enables the given cell to undergo apoptosis.

SUMMARY

[0007] The present disclosure describes a method of delivering CoQ10 or its metabolites into a cell and forming a complex with endogenous CoQ10 and membrane lipids that induces the activation of p53 and initiation of Bcl-2 mediated apoptosis in a cancer cell by modulation of the Bcl-2 subfamily members.

[0008] In embodiments, the present disclosure provides a composition including CoQ10 and phospholipid liposomes that binds to endogenous lipids that maintain membrane integrity such as oleic acid in addition to mevalonic acid and quinones. The present disclosure is also directed to methods of activating p53 and modulating the expression of the Bcl-2 protein family in a manner that commits a given cell to undergo apoptosis where that cell is an oncogenic cell.

[0009] In embodiments, the present disclosure provides a composition for the treatment of cancer including CoQ10, liposomes, and a pharmaceutically acceptable carrier. In some embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0010] In other embodiments, the composition may be in the form of a gel, ointment, cream, salve, lotion, mousse, foam, spray and/or aerosol, liquid (intravenous), nebulized powder, suppository, or any other commercially feasible parenteral route.

[0011] In other embodiments, the present disclosure provides a method of treating cancer which includes administering to a patient in need thereof, a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes, and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0012] In other embodiments, the present disclosure provides a method of contacting endogenous CoQ10 by administering to a patient in need thereof, a composition including a

therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. The composition may include between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0013] The present disclosure also provides a method of targeting the Bcl-2 family of proteins which includes administering to a patient in need thereof a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes, and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0014] The present disclosure also provides a method of re-activating the p53 protein which includes administering to a patient in need thereof a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes, and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0015] The present disclosure also provides a method of modulating the BH3 binding domains of the Bcl-2 family (e.g. Bid, Bim, Bik) administering to a patient in need thereof, a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0016] Methods of modulating the Bax protein are also provided which include, in embodiments, administering to a patient in need thereof a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

9

[0017] The present disclosure also provides a method of modulating angiogenic factors such as VEGF, FGF, Hif-1 α , and angiostatin by administering to a patient in need thereof a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

[0018] In another embodiment, a method of modulating cell-cycle factors such as smad proteins, TGF- β , cdk's (cyclin-dependent kinases), and PI3K/akt administering to a patient in need thereof, a composition including a therapeutically effective amount of CoQ10, liposomes and a pharmaceutically acceptable carrier to the area of oncogenesis. In embodiments, the composition includes between about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0019] The above and further advantages of this disclosure may be better understood by referring to the following description taken in conjunction with the accompanying drawings, in which:

[0020] Figure 1 is a depiction of the metabolic synthesis of CoQ10;

[0021] Figure 2 is a summary of the interactions of Bax, P53, and Bcl-2 in the induction of apoptosis;

[0022] Figure 3 shows Bcl-2 expression in melanoma cells and neonatal fibroblasts after treatment with 50 μ M CoQ10;

[0023] Figure 4 shows Bcl-2 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 24 hours;

10

[0024] Figure 5 shows Bcl-2 expression in melanoma cells treated in the presence and absence of CoQ10 using 24 hr Take Away (TA) method. In TA experiments melanoma cells were treated with CoQ10 for 6, 12, and 24 hours. After incubation the medium was replaced with normal culture medium for 24 hours. Bcl-2 expression was measured to assess the commitment to apoptosis;

[0025] Figure 6 shows Bax expression in melanoma cells after 12 and 24 hours incubation with CoQ10 (50 μ M and 100 μ M);

[0026] Figure 7 shows Bax expression in melanoma cells treated in the presence and absence of CoQ10 using 24 hr Take Away (TA) method. In TA experiments melanoma cells were treated with CoQ10 for 6, 12, and 24 hours. After incubation the medium was replaced with normal culture medium for 24 hours. Bax expression was measured to assess the commitment to apoptosis;

[0027] Figure 8 shows Bid expression in melanoma cells after 12 hours incubation with CoQ10;

[0028] Figure 9 shows the histopathology analysis of human melanoma tumors induced in nude athymic mice. The treatment group received a topical application of CoQ10 for 30 days. Analysis of the tumor pathology indicates a disruption in tumor vasculature;

[0029] Figures 10a-10d show Bcl-2 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 and/or Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) for 24 hours;

[0030] Figure 11 shows p53 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 24 hours;

[0031] Figure 12 is a graph depicting p53 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 12 hours;

- [0032] Figure 13 shows Bcl-xl expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 6 hours;
- [0033] Figure 14 shows Bcl-xl expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 12 hours;
- [0034] Figure 15 is a graph quantifying Bcl-xl expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [0035] Figure 16 shows Caspase-3 expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [0036] Figure 17 is a graph quantifying Caspase-3 expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [0037] Figure 18 shows Mcl-1 expression in melanoma cells treated with Coenzyme Q10 for 3, 6, 12, and 24 hours;
- [0038] Figure 19a is a graph quantifying Mcl-1 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 12 hours; Figure 19b is a graph quantifying Mcl-1 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 24 hours;
- [0039] Figure 20 is a graph quantifying BAX expression in PC-3 (prostate cancer) cells incubated for 4 hours with CoQ10;
- [0040] Figure 21 is a graph quantifying Bcl-2 expression in PC-3 cells incubated for 4 hours with CoQ10;
- [0041] Figure 22 is a graph showing the time point comparison of Bcl-2 expression in PC-3 cells treated with CoQ10 for 4 and 24 hours;
- [0042] Figure 23 is a graph quantifying Bcl-2 expression in SkBr-3 (breast cancer) cells incubated for 4 hours with CoQ10;

[0043] Figure 24 is a graph quantifying Bax expression in SkBr-3 cells incubated for 8 hours with CoQ10;

[0044] Figure 25 shows Bax expression in SkBr3 cells incubated with CoQ10 for 8 hours;

[0045] Figure 26 is a graph comparing Bcl-2 and Bax expression after 24 hours treatment with CoQ10.

DETAILED DESCRIPTION

[0046] The present disclosure provides pharmaceutical compositions including Coenzyme Q10 (CoQ10) and methods of linking to endogenous lipid molecules to modulate molecular machinery that relates to an oncogenic state. The scope of the present disclosure relates to the fields of molecular medicine and oncology specific to gene modulation of the p53 pathway and Bcl-2 gene family.

Definitions

[0047] In accordance with the present disclosure and as used herein, the following terms are defined with the following meanings, unless explicitly stated otherwise.

[0048] As used herein, "a", "an," and "the" include plural references unless the context clearly dictates otherwise.

[0049] As used herein, a "pharmaceutically acceptable" component is one that is suitable for use with humans and/or animals without undue adverse side effects (such as toxicity, irritation, and allergic response) commensurate with a reasonable benefit/risk ratio.

[0050] As used herein, the term "safe and therapeutic effective amount" refers to the quantity of a component which is sufficient to yield a desired therapeutic response without undue

13

adverse side effects (such as toxicity, irritation, or allergic response) commensurate with a reasonable benefit/risk ratio when used in the manner of this disclosure. By "therapeutically effective amount" is meant an amount of a compound of the present disclosure effective to yield the desired therapeutic response. For example, accelerate wound healing, relief of pain and fatigue. The specific safe and effective amount or therapeutically effective amount will vary with such factors as the particular condition being treated, the physical condition of the patient, the type of mammal or animal being treated, the duration of the treatment, the nature of concurrent therapy (if any), and the specific formulations employed and the structure of the compounds or its derivatives.

[0051] As used herein, a "pharmaceutical salt" include, but are not limited to, mineral or organic acid salts of basic residues such as amines; alkali or organic salts of acidic residues such as carboxylic acids. Suitable salts may be made using an organic or inorganic acid. Such salts include chlorides, bromides, sulfates, nitrates, phosphates, sulfonates, formates, tartrates, maleates, malates, citrates, benzoates, salicylates, ascorbates, and the like. In embodiments, hydrochloride salt may be utilized.

[0052] "Diagnostic" or "diagnosed" means identifying the presence or nature of a pathologic condition. Diagnostic methods differ in their sensitivity and specificity. The "sensitivity" of a diagnostic assay is the percentage of diseased individuals who test positive (percent of "true positives"). Diseased individuals not detected by the assay are "false negatives." Subjects who are not diseased and who test negative in the assay, are termed "true negatives." The "specificity" of a diagnostic assay is 1 minus the false positive rate, where the "false positive" rate is defined as the proportion of those without the disease who test positive.

14

While a particular diagnostic method may not provide a definitive diagnosis of a condition, it suffices if the method provides a positive indication that aids in diagnosis.

[0053] The terms "patient" or "individual" are used interchangeably herein, and refers to a mammalian subject to be treated, with human patients being suitable in some embodiments. In some cases, the methods of the present disclosure find use in experimental animals, in veterinary application, and in the development of animal models for disease, including, but not limited to, rodents including mice, rats, and hamsters; and primates.

[0054] "Sample" is used herein in its broadest sense. A sample including polynucleotides, polypeptides, peptides, antibodies and the like may include a bodily fluid; a soluble fraction of a cell preparation, or media in which cells were grown; a chromosome, an organelle, or membrane isolated or extracted from a cell; genomic DNA, RNA, or cDNA, polypeptides, or peptides in solution or bound to a substrate; a cell; a tissue; a tissue print; a fingerprint, skin or hair; and the like.

[0055] "Treatment" is an intervention performed with the intention of preventing the development or altering the pathology or symptoms of a disorder. Accordingly, "treatment" refers to both therapeutic treatment and prophylactic or preventative measures. Those in need of treatment include those already with the disorder as well as those in which the disorder is to be prevented. As used herein, "ameliorated" or "treatment" refers to a symptom which is approaches a normalized value (for example a value obtained in a healthy patient or individual), e.g., is less than 50% different from a normalized value, in embodiments less than about 25% different from a normalized value, in other embodiments is less than 10% different from a normalized value, and in yet other embodiments the presence of a symptom is not significantly different from a normalized value as determined using routine statistical tests.

15

[0056] As used herein, "an ameliorated symptom" or "treated symptom" refers to a symptom which approaches a normalized value, e.g., is less than 50% different from a normalized value, in embodiments less than about 25% different from a normalized value, in other embodiments less than about 10% different from a normalized value, and yet other embodiments the presence of a symptom is not significantly different from a normalized value as determined using routine statistical tests.

Subjects

[0057] Subjects from many different species can be treated with the compositions of the present disclosure. A non-exhaustive exemplary list of such animals includes mammals such as mice, rats, rabbits, goats, sheep, pigs, horses, cattle, dogs, cats, and primates such as monkeys, apes, and human beings. Those animal subjects known to suffer muscle fatigue, pain, wounds, and the like may be suitable for use in the present disclosure. In particular, human patients suffering from injuries, surgery, arthritis, muscle fatigue and the like are suitable animal subjects for use in the present disclosure. By adapting the methods taught herein to other methods known in medicine or veterinary science (e.g., adjusting doses of administered substances according to the weight of the subject animal), the compositions utilized in the present disclosure can be readily optimized for use in other animals.

Pharmaceutical Compositions and Administration to a Subject

[0058] In embodiments, the present disclosure provides CoQ10 compositions for the treatment and prevention of cancer. Transdermal, oral intravenous, and other parenteral preparations of 2, 3-dimethoxy-5-methyl-6-decaprenyl-1,4-benzoquinone (coenzyme Q-10) may

16

include, inter alia, auxiliary agents, an effective amount of pulmonary surfactant, and/or in combination with liposomes.

[0059] In embodiments, the compositions including CoQ10 may be administered topically. It may be desirable to present the active ingredient, e.g. CoQ10, as a pharmaceutical formulation. Exemplary compositions are described in detail in the examples which follow. The active ingredient may include, for topical administration, from 0.001% to about 60% w/w, by weight of the formulation in the final product, although it may include as much as 80% w/w, in embodiments from about 0.001% to about 60% w/w of the formulation. The topical formulations of the present disclosure, include an active ingredient together with one or more acceptable carrier(s) thereof and optionally any other therapeutic ingredients(s). The carrier(s) must be "acceptable" in the sense of being compatible with the other ingredients of the formulation and not deleterious to the recipient thereof.

[0060] In some embodiments, the CoQ10 may be included in a composition such as the composition disclosed in U.S. Patent Application Serial No. 12/052,825, the entire disclosure of which is incorporated by reference herein.

[0061] The composition of the present disclosure can be administered to a patient either by themselves, or in pharmaceutical compositions where it is mixed with suitable carriers or excipient(s). In treating a patient exhibiting a disorder of interest, a therapeutically effective amount of an agent or agents such as these is administered. A therapeutically effective dose refers to that amount of the compound that results in amelioration of symptoms or a prolongation of survival in a patient.

[0062] Toxicity and therapeutic efficacy of such compounds can be determined by standard pharmaceutical procedures in cell cultures or experimental animals, e.g., for determining the

17

LD₅₀ (the dose lethal to 50% of the population) and the ED₅₀ (the dose therapeutically effective in 50% of the population). The dose ratio between toxic and therapeutic effects is the therapeutic index and it can be expressed as the ratio LD₅₀/ED₅₀. Compounds which exhibit large therapeutic indices may be desirable. The data obtained from these cell culture assays and animal studies can be used in formulating a range of dosage for use in human. The dosage of such compounds may be within a range of circulating concentrations that include the ED₅₀ with little or no toxicity. The dosage may vary within this range depending upon the dosage form employed and the route of administration utilized.

[0063] For any compound used in the method of the present disclosure, the therapeutically effective dose can be estimated initially from cell culture assays. For example, a dose can be formulated in animal models to achieve a circulating plasma concentration range that includes the IC₅₀ as determined in cell culture. Such information can be used to more accurately determine useful doses in humans. Levels in plasma may be measured, for example, by HPLC.

[0064] The exact formulation, route of administration and dosage can be chosen by the individual physician in view of the patient's condition. (See e.g. Fingl et al., in The Pharmacological Basis of Therapeutics, 1975, Ch. 1 p. 1). It should be noted that the attending physician would know how to and when to terminate, interrupt, or adjust administration due to toxicity, or to organ dysfunctions. Conversely, the attending physician would also know to adjust treatment to higher levels if the clinical response were not adequate (precluding toxicity). The magnitude of an administered dose in the management of the oncogenic disorder of interest will vary with the severity of the condition to be treated and to the route of administration. The severity of the condition may, for example, be evaluated, in part, by standard prognostic evaluation methods. Further, the dose and perhaps dose frequency, will also vary according to

the age, body weight, and response of the individual patient. A program comparable to that discussed above for humans may be used in veterinary medicine.

[0065] The compositions of the present disclosure can be applied to a patient by treatment modalities that are tailored to the patient, such as the type of injury, severity of the injury, location of the injury. For example, the percentage of the active composition can be modulated during the course of treatment again depending on severity, type of injury etc. CoQ10 the active ingredient, may include, from 0.001% to about 60% w/w, by weight of the formulation in the final product, although it may include as much as 80% w/w, in embodiments from about 0.001% to about 60% w/w of the formulation.

[0066] The compositions can be applied to a patient at least once a day. In other embodiments the pharmaceutical compositions can be applied, twice a day, three times a day or more. The times and compositions containing the active ingredients can easily be determined by a clinician.

[0067] Depending on the specific conditions being treated, such agents may be formulated and administered systemically or locally. Techniques for formulation and administration may be found in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990). Suitable routes may include oral, rectal, transdermal, vaginal, transmucosal, or intestinal administration; parenteral delivery, including intramuscular, subcutaneous, intramedullary injections, as well as intrathecal, direct intraventricular, intravenous, intraperitoneal, intranasal, or intraocular injections, just to name a few.

[0068] The compositions described above may be administered to a subject in any suitable formulation. In addition to treatment of cancer with topical formulations of CoQ10, in other aspects of the present disclosure CoQ10 might be delivered by other methods. For example,

19

CoQ10 might be formulated for parenteral delivery, e.g., for subcutaneous, intravenous, intramuscular, or intratumoral injection. Other methods of delivery, for example, liposomal delivery or diffusion from a device impregnated with the composition might be used. The compositions may be administered in a single bolus, multiple injections, or by continuous infusion (for example, intravenously or by peritoneal dialysis). For parenteral administration, the compositions may be formulated in a sterilized pyrogen-free form. Compositions of the present disclosure can also be administered in vitro to a cell (for example, to Bcl-2 production in a cell or in an in vitro culture) by simply adding the composition to the fluid in which the cell is contained.

[0069] Depending on the specific conditions being treated, such agents may be formulated and administered systemically or locally. Techniques for formulation and administration may be found in Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990). Suitable routes may include oral, rectal, transdermal, vaginal, transmucosal, or intestinal administration; parenteral delivery, including intramuscular, subcutaneous, intramedullary injections, as well as intrathecal, direct intraventricular, intravenous, intraperitoneal, intranasal, or intraocular injections, just to name a few.

[0070] For injection, the agents of the present disclosure may be formulated in aqueous solutions, for example, in physiologically compatible buffers such as Hanks' solution, Ringer's solution, or physiological saline buffer. For such transmucosal administration, penetrants appropriate to the barrier to be permeated are used in the formulation. Such penetrants are generally known in the art.

[0071] Use of pharmaceutically acceptable carriers to formulate the compounds herein disclosed for the practice of the present disclosure into dosages suitable for systemic

70

administration is within the scope of the present disclosure. With proper choice of carrier and suitable manufacturing practice, the compositions of the present disclosure, in particular, those formulated as solutions, may be administered parenterally, such as by intravenous injection. The compounds can be formulated readily using pharmaceutically acceptable carriers well known in the art into dosages suitable for oral administration. Such carriers enable the compounds of the present disclosure to be formulated as tablets, pills, capsules, liquids, gels, syrups, slurries, suspensions and the like, for oral ingestion by a patient to be treated.

[0072] Agents intended to be administered intracellularly may be administered using techniques well known to those of ordinary skill in the art. For example, such agents may be encapsulated into liposomes, then administered as described above. Liposomes are spherical lipid bilayers with aqueous interiors. All molecules present in an aqueous solution at the time of liposome formation are incorporated into the aqueous interior. The liposomal contents are both protected from the external microenvironment and, because liposomes fuse with cell membranes, are efficiently delivered into the cell cytoplasm. Additionally, due to their hydrophobicity, small organic molecules may be directly administered intracellularly.

[0073] Pharmaceutical compositions suitable for use in the present disclosure include compositions wherein the active ingredients are contained in an effective amount to achieve its intended purpose. Determination of the effective amounts is well within the capability of those skilled in the art, especially in light of the detailed disclosure provided herein. In addition to the active ingredients, these pharmaceutical compositions may contain suitable pharmaceutically acceptable carriers including excipients and auxiliaries which facilitate processing of the active compounds into preparations which can be used pharmaceutically. The preparations formulated for oral administration may be in the form of tablets, dragees, capsules, or solutions. The

pharmaceutical compositions of the present disclosure may be manufactured in a manner that is itself known, e.g., by means of conventional mixing, dissolving, granulating, dragee-making, levitating, emulsifying, encapsulating, entrapping or lyophilizing processes.

[0074] Formulations suitable for topical administration include liquid or semi-liquid preparations suitable for penetration through the skin to the site of where treatment is required, such as liniments, lotions, creams, ointments or pastes, and drops suitable for administration to the eye, ear, or nose. Drops according to the present disclosure may include sterile aqueous or oily solutions or suspensions and may be prepared by dissolving the active ingredient in a suitable aqueous solution of a bactericidal and/or fungicidal agent and/or any other suitable preservative, and in some embodiments including a surface active agent. The resulting solution may then be clarified and sterilized by filtration and transferred to the container by an aseptic technique. Examples of bactericidal and fungicidal agents suitable for inclusion in the drops are phenylmercuric nitrate or acetate (0.002%), benzalkonium chloride (0.01%) and chlorhexidine acetate (0.01%). Suitable solvents for the preparation of an oily solution include glycerol, diluted alcohol and propylene glycol.

[0075] Lotions according to the present disclosure include those suitable for application to the skin or eye. An eye lotion may include a sterile aqueous solution optionally containing a bactericide and may be prepared by methods similar to those for the preparation of drops. Lotions or liniments for application to the skin may also include an agent to hasten drying and to cool the skin, such as an alcohol or acetone, and/or a moisturizer such as glycerol or an oil such as castor oil or arachis oil.

[0076] Creams, ointments or pastes according to the present disclosure are semi-solid formulations of the active ingredient for external application. They may be made by mixing the

22

active ingredient in finely-divided or powdered form, alone or in solution or suspension in an aqueous or non-aqueous fluid, with the aid of suitable machinery, with a greasy or non-greasy basis. The basis may include hydrocarbons such as hard, soft or liquid paraffin, glycerol, beeswax, a metallic soap; a mucilage; an oil of natural origin such as almond, corn, arachis, castor or olive oil; wool fat or its derivatives, or a fatty acid such as stearic or oleic acid together with an alcohol such as propylene glycol or macrogels. The formulation may incorporate any suitable surface active agent such as an anionic, cationic or non-ionic surface active such as sorbitan esters or polyoxyethylene derivatives thereof. Suspending agents such as natural gums, cellulose derivatives or inorganic materials such as siliceous silicas, and other ingredients such as lanolin, may also be included.

[0077] Pharmaceutical formulations for parenteral administration include aqueous solutions of the active compounds in water-soluble form. Additionally, suspensions of the active compounds may be prepared as appropriate oily injection suspensions. Suitable lipophilic solvents or vehicles include fatty oils such as sesame oil, or synthetic fatty acid esters, such as ethyl oleate or triglycerides, or liposomes. Aqueous injection suspensions may contain substances which increase the viscosity of the suspension, such as sodium carboxymethyl cellulose, sorbitol, or dextran. Optionally, the suspension may also contain suitable stabilizers or agents which increase the solubility of the compounds to allow for the preparation of highly concentrated solutions.

[0078] Pharmaceutical preparations for oral use can be obtained by combining the active compounds with solid excipient, optionally grinding a resulting mixture, and processing the mixture of granules, after adding suitable auxiliaries, if desired, to obtain tablets or dragee cores. Suitable excipients are, in particular, fillers such as sugars, including lactose, sucrose, mannitol,

23

or sorbitol; cellulose preparations such as, for example, maize starch, wheat starch, rice starch, potato starch, gelatin, gum tragacanth, methyl cellulose, hydroxypropylmethyl-cellulose, sodium carboxy-methylcellulose, and/or polyvinyl pyrrolidone (PVP). If desired, disintegrating agents may be added, such as the cross-linked polyvinyl pyrrolidone, agar, or alginic acid or a salt thereof such as sodium alginate.

[0079] Dragee cores are provided with suitable coating. For this purpose, concentrated sugar solutions may be used, which may optionally contain gum arabic, talc, polyvinyl pyrrolidone, carbopol gel, polyethylene glycol, and/or titanium dioxide, lacquer solutions, and suitable organic solvents or solvent mixtures. Dyestuffs or pigments may be added to the tablets or dragee coatings for identification or to characterize different combinations of active compound doses.

[0080] Pharmaceutical preparations which can be used orally include push-fit capsules made of gelatin, as well as soft, sealed capsules made of gelatin and a plasticizer, such as glycerol or sorbitol. The push-fit capsules can contain the active ingredients in admixture with filler such as lactose, binders such as starches, and/or lubricants such as talc or magnesium stearate and, optionally, stabilizers. In soft capsules, the active compounds may be dissolved or suspended in suitable liquids, such as fatty oils, liquid paraffin, or liquid polyethylene glycols. In addition, stabilizers may be added.

[0081] The composition can include a buffer system, if desired. Buffer systems are chosen to maintain or buffer the pH of compositions within a desired range. The term "buffer system" or "buffer" as used herein refers to a solute agent or agents which, when in a water solution, stabilize such solution against a major change in pH (or hydrogen ion concentration or activity) when acids or bases are added thereto. Solute agent or agents which are thus responsible for a

24

resistance or change in pH from a starting buffered pH value in the range indicated above are well known. While there are countless suitable buffers, potassium phosphate monohydrate may be a suitable buffer.

[0082] The final pH value of the pharmaceutical composition may vary within the physiological compatible range. The final pH value should not be irritating to human skin and may also be selected so that transdermal transport of the active compound, e.g. CoQ10, may be facilitated. Without violating this constraint, the pH may be selected to improve CoQ10 compound stability and to adjust consistency when required. In one embodiment, the pH value may be from about 3 to about 7.4, in embodiments from about 3.2 to about 6.5, in other embodiments from about 3.5 to about 6.

[0083] In some embodiments, the remaining component of a topical delivery vehicle may be water, in embodiments purified, e.g. deionized, water. Such delivery vehicle compositions may contain water in an amount of from about 50 to about 95 percent, based on the total weight of the composition. The specific amount of water present is not critical, however, being adjustable to obtain the desired viscosity (usually about 50 cps to about 10,000 cps) and/or concentration of the other components. The topical delivery vehicle may have a viscosity of at least about 30 centipoises.

[0084] Other known transdermal skin penetration enhancers can also be used to facilitate delivery of CoQ10. Illustrative are sulfoxides such as dimethylsulfoxide (DMSO) and the like; cyclic amides such as 1-dodecylazacycloheptane-2-one (AZONE®, a registered trademark of Nelson Research, Inc.) and the like; amides such as N,N-dimethyl acetamide (DMA) N,N-diethyl toluamide, N,N-dimethyl formamide, N,N-dimethyl octamide, N,N-dimethyl decamide, and the like; pyrrolidone derivatives such as N-methyl-2-pyrrolidone, 2-pyrrolidone, 2-pyrrolidone-5-

25

carboxylic acid, N-(2-hydroxyethyl)-2-pyrrolidone or fatty acid esters thereof, 1-lauryl-4-methoxycarbonyl-2-pyrrolidone, N-tallow alkylpyrrolidones, and the like; polyols such as propylene glycol, ethylene glycol, polyethylene glycol, dipropylene glycol, glycerol, hexanetriol, and the like; linear and branched fatty acids such as oleic, linoleic, lauric, valeric, heptanoic, caproic, myristic, isovaleric, neopentanoic, trimethyl hexanoic, isostearic, and the like; alcohols such as ethanol, propanol, butanol, octanol, oleyl, stearyl, linoleyl, and the like; anionic surfactants such as sodium laurate, sodium lauryl sulfate, and the like; cationic surfactants such as benzalkonium chloride, dodecyltrimethylammonium chloride, cetyltrimethylammonium bromide, and the like; non-ionic surfactants such as the propoxylated polyoxyethylene ethers, e.g., Poloxamer 231, Poloxamer 182, Poloxamer 184, and the like, the ethoxylated fatty acids, e.g., Tween 20, Myrj 45, and the like, the sorbitan derivatives, e.g., Tween 40, Tween 60, Tween 80, Span 60, and the like, the ethoxylated alcohols, e.g., polyoxyethylene (4) lauryl ether (Brij 30), polyoxyethylene (2) oleyl ether (Brij 93), and the like, lecithin and lecithin derivatives, and the like; the terpenes such as D-limonene, α -pinene, β -carene, α -terpineol, carvol, carvone, menthone, limonene oxide, α -pinene oxide, eucalyptus oil, and the like.

[0085] Also suitable as skin penetration enhancers are organic acids and esters such as salicylic acid, methyl salicylate, citric acid, succinic acid, and the like.

Effective Amounts

[0086] The compositions described above may be administered to a subject in an effective amount. An effective amount is an amount which is capable of producing a desirable result in a treated animal or cell. As is well known in the medical and veterinary arts, dosage for any one animal depends on many factors, including the particular animal's size, body surface area, age,

26

the particular composition to be administered, time and route of administration, general health, and other drugs being administered concurrently. It is expected that an appropriate dosage for topical administration of the compositions of the present disclosure would be from about 0.1 to about 2.5 mg CoQ10/kg of body weight (e.g., from about 10 to about 500 mg for subjects ranging from about 110 to about 300 lbs. An effective amount for use with a cell in culture will also vary, but can be readily determined empirically (for example, by adding varying concentrations to the cell and selecting the concentration that best produces the desired result). It is expected that an appropriate concentration would be from about 1 to about 250 μ M.

EXAMPLES

[0087] Materials utilized for the experiments to generate the data accompanying the present disclosure included the following: Skmel-28 (HTB-72), PC-3 (CRL-1435), and SkBr3 (HBT-30) were purchased from ATCC. The cell lines were grown in DMEM/F12 medium (Dulbecco's Modified Eagle Medium:Nutrient Mixture F-12, commercially available from Invitrogen Corporation) and supplemented with 5% bovine calf serum. The Bcl-2 (Cat #:2872), Bax (Cat#:2774), Bid (Cat#:2002), p53 (Cat#:9282), Bcl-xl (Cat#:2762), Caspase-3 (Cat#:9662), Mcl-1 (Cat#:4572), Bax (Cat#:2772), Anti-rabbit IgG (Cat#:7074), and Anti-Mouse IgG (Cat#:7076) antibodies were purchased from Cell Signaling Technology (Boston, MA). Reagents and chemicals were purchased from Sigma Aldrich (St Louis, MO). Western blot gels and buffers were purchased from Bio-Rad (Hercules, CA).

Example 1

Protein expression protocol. (Generated the data found in Figures: 3, 4, 5, 6, 7, 10a-10d, 13, 14, 16, 18, 19a, and 25.)

[0088] Skmel-28, PC-3, and SkBr3 cells were grown to 80% confluency and subcultured in petri dishes. After 24 hours, the cells adhered to the plates and the medium was extracted. Treatment medium was added to each plate. Following the intended incubation time, the medium was removed and the cells were washed with cold phosphate buffered saline (PBS). The cells were scraped in cold PBS and collected in centrifuge tubes. Cells were then pelleted and washed with cold PBS (3 times). The PBS was removed, after which a lysis buffer was added and sonicated to disperse the protein structures. A sample buffer was added to each tube and the solutions were boiled for 5 minutes. Using a BCA (bicinchoninic acid) protein analysis kit, the concentration of protein was quantified for each sample. These values determined the loading volumes for each samples.

[0089] The samples were loaded in a 4% stacking and 12% running Tris-Hcl gel western blot gels. After separation, the bands of protein were transferred to nitrocellulose paper using electrophoresis. The nitrocellulose paper was blocked overnight with 5% milk solutions. The respective antibodies were added to each nitrocellulose paper containing the protein samples. After 24 hours the primary antibody was removed and the extraction paper was washed to remove any unbounded primary antibodies. Depending on the type of the primary antibody, an anti-mouse or anti-rabbit secondary antibody was added to the protein extracts. After incubation, the antibodies were removed and the nitrocellulose papers were washed. A Pico Chemo-luminescent was added and the nitrocellulose paper was exposed to X-Ray development film under dark room conditions. The film was developed to record the protein expression.

28

Graphical analysis for the Western Blot Analysis (Generated the data found in Figures 12, 15, 17, 19a, 20, 21, 22, 23, 24, 26.)

[0090] The procedure for protein expression was used to obtain a photographic image of the protein expression. These images were scanned into image files for computer analysis. Using ImageJ software developed by the U.S. National Institutes of Health (NIH), the levels of protein expression were quantified. The expression was then calculated based on the level of expression of the actin, which was the loading control for the samples. The numerical values were statistically analyzed for statistical significance.

Histological Samples

[0091] Skmel-28 cells were grown in 5% serum-supplemented DMEM/F12 medium to 80% confluency. The cells were trypsinized and pelleted using a centrifuge. The pellets were then resuspended in cold PBS. The subjects for this study were nude athymic mice. Each subject received two injections of the cell suspension on the dorsal region of the mouse. After a visual assessment of the establishment of a tumor, treatment with a topical application would commence. After 30 days of treatment, the tumors were excised from the mice and placed in formalin. Each tumor sample was embedded in paraffin and sliced using a microtome. The slides underwent an H & E or S-100 stain. These samples were then analyzed by a pathologist to assess the vascular integrity of the tumor.

[0092] The Figures provide details regarding the synthesis of CoQ10, and the interactions of endogenous proteins in a cancer state, including their expression in cancer states. The Figures also depict the data obtained from the above experiments, and demonstrate the effects the

79

administration of a compound such as CoQ10, in varying concentrations and for varying periods of time, had on various types of cancer cells. Briefly, in summary, the Figures include the following:

- [0093] Figure 1 is a depiction of the metabolic synthesis of CoQ10;
- [0094] Figure 2 is a summary of the interactions of Bax, P53, and Bcl-2 in the induction of apoptosis;
- [0095] Figure 3 shows Bcl-2 expression in melanoma cells and neonatal fibroblasts after treatment with 50 μ M CoQ10;
- [0096] Figure 4 shows Bcl-2 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 24 hours;
- [0097] Figure 5 shows Bcl-2 expression in melanoma cells treated in the presence and absence of CoQ10 using a 24 hour Take Away (TA) method. In TA experiments, melanoma cells were treated with CoQ10 for 6, 12, and 24 hours. After incubation the medium was replaced with normal culture medium for 24 hours. Bcl-2 expression was measured to assess the commitment to apoptosis;
- [0098] Figure 6 shows Bax expression in melanoma cells after 12 and 24 hours incubation with CoQ10 (50 μ M and 100 μ M);
- [0099] Figure 7 shows Bax expression in melanoma cells treated in the presence and absence of CoQ10 using 24 hr Take Away (TA) method. In TA experiments melanoma cells were treated with CoQ10 for 6, 12, and 24 hours. After incubation the medium was replaced with normal culture medium for 24 hours. Bax expression was measured to assess the commitment to apoptosis;

- [00100] Figure 8 shows Bid expression in melanoma cells after 12 hours incubation with CoQ10;
- [00101] Figure 9 shows the histopathology analysis of human melanoma tumors induced in nude athymic mice. The treatment group received a topical application of CoQ10 for 30 days. Analysis of the tumor pathology indicates a disruption in tumor vasculature;
- [00102] Figures 10a-10d show Bcl-2 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 and/or Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) for 24 hours;
- [00103] Figure 11 shows p53 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 24 hours;
- [00104] Figure 12 is a graph depicting p53 expression in melanoma cells incubated with 50 μ M and 100 μ M CoQ10 for 12 hours;
- [00105] Figure 13 shows Bcl-xl expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 6 hours;
- [00106] Figure 14 shows Bcl-xl expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 12 hours;
- [00107] Figure 15 is a graph quantifying Bcl-xl expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [00108] Figure 16 shows Caspase-3 expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [00109] Figure 17 is a graph quantifying Caspase-3 expression in melanoma cells treated for 12 hours with CoQ10;
- [00110] Figure 18 shows Mcl-1 expression in melanoma cells treated with Coenzyme Q10 for 3, 6, 12, and 24 hours;

[00111] Figure 19a is a graph quantifying Mcl-1 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 12 hours; Figure 19b is a graph quantifying Mcl-1 expression in melanoma cells incubated with CoQ10 for 24 hours;

[00112] Figure 20 is a graph quantifying BAX expression in PC-3 (prostate cancer) cells incubated for 4 hours with CoQ10;

[00113] Figure 21 is a graph quantifying Bcl-2 expression in PC-3 cells incubated for 4 hours with CoQ10;

[00114] Figure 22 is a graph showing the time point comparison of Bcl-2 expression in PC-3 cells treated with CoQ10 for 4 and 24 hours;

[00115] Figure 23 is a graph quantifying Bcl-2 expression in SkBr-3 (breast cancer) cells incubated for 4 hours with CoQ10;

[00116] Figure 24 is a graph quantifying Bax expression in SkBr-3 cells incubated for 8 hours with CoQ10;

[00117] Figure 25 shows Bax expression in SkBr3 cells incubated with CoQ10 for 8 hours;

[00118] Figure 26 is a graph comparing Bcl-2 and Bax expression after 24 hours treatment with CoQ10.

Conditions/Disorders/Uses

[00119] As noted above, compositions of the present disclosure may be utilized for the treatment of cancer. Such compositions may include CoQ10 or its metabolites in a pharmaceutically acceptable carrier. Such a composition may effectuate cell contact of endogenous Coenzyme Q10 or its metabolites thereof in addition to, but not limited to, mevalonic acid and oleic acid to form an intracellular complex. In embodiments, such a

composition may include from about 0.001% to about 60% (w/w) of Coenzyme Q10. Such compositions may be topical compositions which, in turn, may be gels, ointments, liquids, creams, salves, lotions, sprays, aerosols, mousses, foams, combinations thereof, and the like.

[00120] As also noted above, compositions of the present disclosure may be in a liquid form, capable of introduction into a subject by any means or route of administration within the purview of those skilled in the art. For example, compositions may be administered by routes of administration including, but not limited to, the lungs, intravenous, oral, transdermal, rectal, subcutaneous, transmucosal, buccal, sublingual, intratumoral, combinations thereof, and the like.

[00121] In some embodiments, it may be desirable to nebulize or aerosolize the compositions for administration.

[00122] Methods for treating disease states with the compositions herein are also provided. Such methods may include treating cancer. Where utilized to treat cancer, the compositions may be in a pharmaceutically acceptable carrier that may be administered in a therapeutically effective amount to an area of oncogenesis as either a monotherapy, in combination with at least one other chemotherapeutic agent for a given indication, in combination with radiotherapy, following surgical intervention to radically remove a tumor, in combination with other alternative and/or complementary acceptable treatments for cancer, and the like.

[00123] In embodiments, the present disclosure also provides a method claim for re-activating a mutated/inactivated p53 protein by administering to an area of oncogenesis in a patient a composition of the present disclosure.

[00124] The present disclosure also provides methods for modulating proteins implicated in oncogenesis by administering to an area of oncogenesis in a patient a composition of the present disclosure. Such proteins which may be modulated by compositions of the present disclosure

include, but are not limited to: Bcl-2 protein; Bax protein; Bid protein; Bim protein; Bad protein; Bak protein; mcl-1 protein; Bcl-xl protein; Bcl-xs protein; Bcl-w protein; Bik protein; Bok protein; BimL protein; A1 protein; Hrk protein; Bik protein; BNIP3 protein; Blk protein; Noxa protein; Puma protein; VEGF protein; FGF-1/FGF-2 protein; Hif- α protein; angiostatin protein; TGF- β protein; smad proteins; cdk (cyclin-dependent kinases); the PI3K/akt complex.

[00125] In other embodiments, compositions of the present disclosure may be utilized to regulate and/or restore a healthy apoptosis state in cancer cells. Mitochondrial dysfunction and dysregulation of apoptosis are implicated in many diseases such as cancer and neurodegeneration. Respiratory chain (RC) dysfunction may have a role in apoptosis, as demonstrated using mitochondrial DNA mutations as genetic models. Although some mutations eliminate the entire RC, others target specific complexes, resulting in either decreased or complete loss of electron flux, which leads to impaired respiration and adenosine triphosphate (ATP) synthesis. Despite these similarities, significant differences in responses to apoptotic stimuli emerge. Cells lacking RC are protected against both mitochondrial- and endoplasmic reticulum (ER) stress-induced apoptosis. Cells with RC, but unable to generate electron flux, are protected against mitochondrial apoptosis, although they have increased sensitivity to ER stress. Finally, cells with a partial reduction in electron flux have increased apoptosis under both conditions. RC modulates apoptosis in a context-dependent manner independent of ATP production and that apoptotic responses are the result of the interplay between mitochondrial functional state and environmental cues.

[00126] The execution of apoptosis and communication between oncogenic factors may also be mediated by released factors such as cytochrome C, Endo G, or AIF through mitochondrial membrane pores which open upon membrane depolarization.

34

[00127] Cancer cells also generate excessive lactate in the presence of oxygen (aerobic glycolysis). It now appears that this phenomenon is the product of two factors: a return to the more glycolytic metabolism of the embryo and alterations in oxidative phosphorylation (OXPHOS) to increase mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production. Alterations in the Ras-PI3K-Akt signal transduction pathway can result in induction of hexokinase II and its attachment to mitochondrial porin redirecting mitochondrial ATP to phosphorylate glucose and drive glycolysis. Furthermore, partial inhibition of OXPHOS by mitochondrial gene mutations (germ-line or somatic) can reduce electron flux through the electron transport chain, increasing mitochondrial ROS production. The increased ROS mutagenizes nuclear proto-oncogenes (initiation) and drives nuclear replication (promotion), resulting in cancer. Therefore, hexokinase II and mitochondrial ROS may be useful alternate targets for cancer therapeutics.

[00128] Metabolic flux as it relates to cancer is compromised in an oncogenic state and shifts towards a glycolytic state. A cancer cell's survival is vitally dependent on glucose metabolism and low oxygen levels. More perplexing is that mitochondrial activity is significantly attenuated to the point of dormancy. Oxidative phosphorylation usually associated with Complex 1-IV that accepts electrons from the Citric Acid Cycle (TCA) is essentially shut down. There is a marked increase in the amount of free radicals and lactate dehydrogenase activity. Hence, the cancer cell is in state of:

- 1) Decreased oxygen (Hypoxia)
- 2) Increase free- radical formation
- 3) Dysregulated apoptosis (cell death)
- 4) Dependence of glucose metabolism
- 5) Increased blood vessel formation

35

6) Altered immune recognition (auto-regulatory state commences)

[00129] In embodiments, the effect CoQ10 may have on cancer cells may depend, in part, on the various states of metabolic and oxidative flux exhibited by the cancer cells. CoQ10 may be utilized to interrupt and/or interfere with the conversion of an oncogenic cell's dependency of glycolysis and increased lactate utility. As it relates to a cancer state, this interference with the glycolytic and oxidative flux of the tumor microenvironment may influence apoptosis and angiogenesis in a manner which reduces the development of a cancer cell.

[00130] In embodiments, the interaction of Coenzyme Q10 with glycolytic and oxidative flux factors may enhance the ability of Coenzyme Q10 to exert its restorative apoptotic effect in cancer while establishing viable drug targets for drug discovery and development.

[00131] While the above disclosure has focused on Coenzyme Q10 and its metabolites, other compounds related to CoQ10 which may be administered instead of, or in combination with, CoQ10 include, but are not limited to, benzoquinones, isoprenoids, farnesols, farnesyl acetate, farnesyl pyrophosphate, l-phenylalanine, d-phenylalanine, dl-phenylalanine, l-tyrosine, d-tyrosine, dl-tyrosine, 4-hydroxy-phenylpyruvate, 4-hydroxy-phenyllactate, 4-hydroxy-cinnamate, dipeptides and tripeptides of tyrosine or phenylalanine, 3,4-dihydroxymandelate, 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol, 3-methoxy-4-hydroxymandelate, vanillic acid, phenylacetate, pyridoxine, S-adenosyl methionine, panthenol, mevalonic acid, isopentyl pyrophosphate, phenylbutyrate, 4-hydroxy-benzoate, decaprenyl pyrophosphate, beta-hydroxybutyrate, 3-hydroxy-3-methyl-glutarate, acetylcarnitine, acetoacetylcarnitine, acetylglycine, acetoacetylglycine, carnitine, acetic acid, pyruvic acid, 3-hydroxy-3-methylglutaryl carnitine, all isomeric forms of serine, alanine, cysteine, glycine, threonine, hydroxyproline, lysine, isoleucine, and leucine, even carbon number C4 to C18 fatty acids (butyric, caproic, caprylic, capric, lauric,

myristic, palmitic, and stearic acids) salts of carnitine and glycine, e.g., palmitoylcarnitine and palmitoylglycine, and 4-hydroxy-benzoate polyprenyltransferase, any salts of these compounds, as well as any combinations thereof, and the like.

[00132] The figures are offered by way of illustration, not by way of limitation. While specific examples have been provided, the above description is illustrative and not restrictive. Any one or more of the features of the previously described embodiments can be combined in any manner with one or more features of any other embodiments in the present disclosure. Furthermore, many variations of the present disclosure will become apparent to those skilled in the art upon review of the specification.

Other References

[00133] All publications and patent documents cited in this application are incorporated by reference in pertinent part for all purposes to the same extent as if each individual publication or patent document were so individually denoted. By their citation of various references in this document, Applicants do not admit any particular reference is "prior art" to their disclosure.

[00134] It is to be understood that while the present disclosure has been described in conjunction with the detailed description thereof, the foregoing description is intended to illustrate and not limit the scope of the present disclosure, which is defined by the scope of the appended claims. Other aspects, advantages, and modifications are within the scope of the following claims and their equivalents.

37

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A method comprising:
administering to a cell a composition comprising a liposome comprising a phospholipid and a bioactive agent comprising coenzyme Q10 or its metabolites; and
allowing the coenzyme Q 10 or its metabolites to form a complex with endogenous coenzyme Q10 and membrane lipids,
wherein the formation of the complex induces the cell to undergo apoptosis.
2. The method of claim 1, wherein the membrane lipids comprise endogenous lipids selected from the group consisting of oleic acid, mevalonic acid and quinones.
3. The method of claim 1, wherein the composition further comprises a pharmaceutically acceptable carrier, and wherein the coenzyme Q10 is present in an amount of from about 0.001% to about 60% (w/w) of the composition.
4. The method of claim 1, wherein the composition is in a form selected from the group consisting of gels, ointments, creams, salves, lotions, mousses, foams, sprays, aerosols, liquids, nebulized powders, and suppositories.
5. The method of claim 1, wherein the formation of the complex induces modulation of a cell protein selected from the group consisting of p53, Bcl-2, Bcl-2 subfamily members, and Bak.

6. The method of claim 5, wherein modulation of the cell protein comprises re-activation of the p53 protein.
7. The method of claim 5, wherein modulation of the cell protein comprises modulating at least one BH3 binding domain of the Bcl-2 family.
8. The method of claim 7, wherein the at least one BH3 binding domain of the Bcl-2 family is selected from the group consisting of Bid, Bim, Bik, and combinations thereof.
9. The method of claim 1, wherein the cell is an oncogenic cell.
10. A method for treating cancer comprising:
administering to an oncogenic cell a composition comprising a liposome comprising a phospholipid and a bioactive agent comprising coenzyme Q10 or its metabolites;
and
allowing the coenzyme Q 10 or its metabolites to form a complex with endogenous coenzyme Q10 and membrane lipids,
wherein the formation of the complex modulates angiogenic factors of the oncogenic cell.
11. The method of claim 10, wherein the membrane lipids comprise endogenous lipids selected from the group consisting of oleic acid, mevalonic acid and quinones.

12. The method of claim 10, wherein the composition further comprises a pharmaceutically acceptable carrier, and wherein the coenzyme Q10 is present in an amount of from about 0.001% to about 60% (w/w) of the composition.

13. The method of claim 10, wherein the composition is in a form selected from the group consisting of gels, ointments, creams, salves, lotions, mousses, foams, sprays, aerosols, liquids, nebulized powders, and suppositories.

14. The method of claim 10, wherein the formation of the complex modulates angiogenic factors selected from the group consisting of VEGF, FGF, Hif-1 α , and angiostatin.

15. A method for treating cancer comprising:
administering to an oncogenic cell a composition comprising a liposome comprising a phospholipid and a bioactive agent comprising coenzyme Q10 or its metabolites;
and

allowing the coenzyme Q 10 or its metabolites to form a complex with endogenous coenzyme Q10 and membrane lipids,

wherein the formation of the complex modulates cell-cycle factors of the oncogenic cell.

16. The method of claim 15, wherein the membrane lipids comprise endogenous lipids selected from the group consisting of oleic acid, mevalonic acid and quinones.

17. The method of claim 15, wherein the composition further comprises a pharmaceutically acceptable carrier, and wherein the coenzyme Q10 is present in an amount of from about 0.001% to about 60% (w/w) of the composition.

18. The method of claim 15, wherein the composition is in a form selected from the group consisting of gels, ointments, creams, salves, lotions, mousses, foams, sprays, aerosols, liquids, nebulized powders, and suppositories.

19. The method of claim 15, wherein the formation of the complex modulates cell-cycle factors selected from the group consisting of smad proteins, TGF- β , cyclin-dependent kinases, and PI3K/akt.

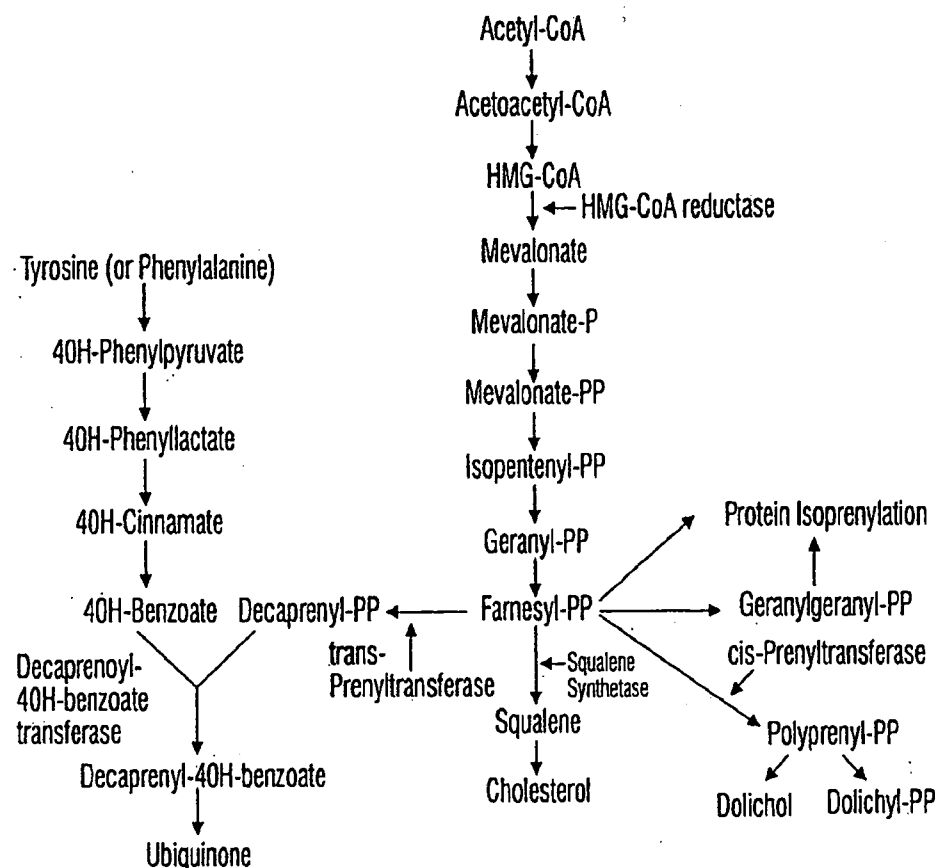


FIG. 1

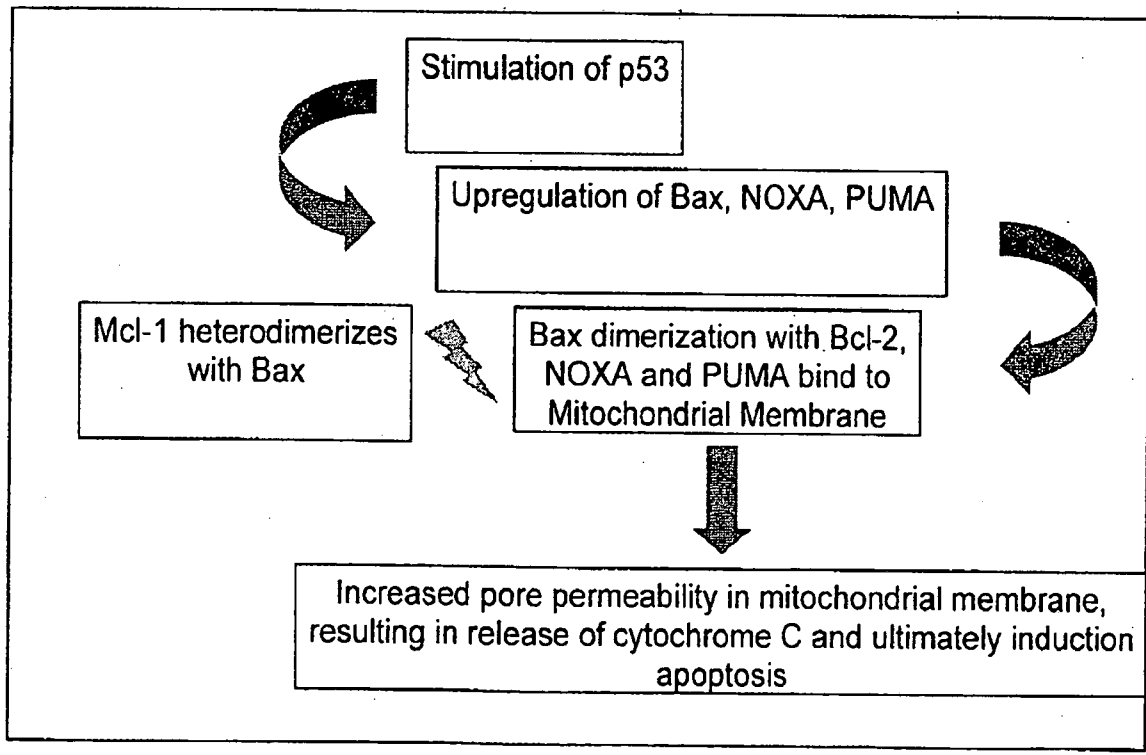


Figure 2

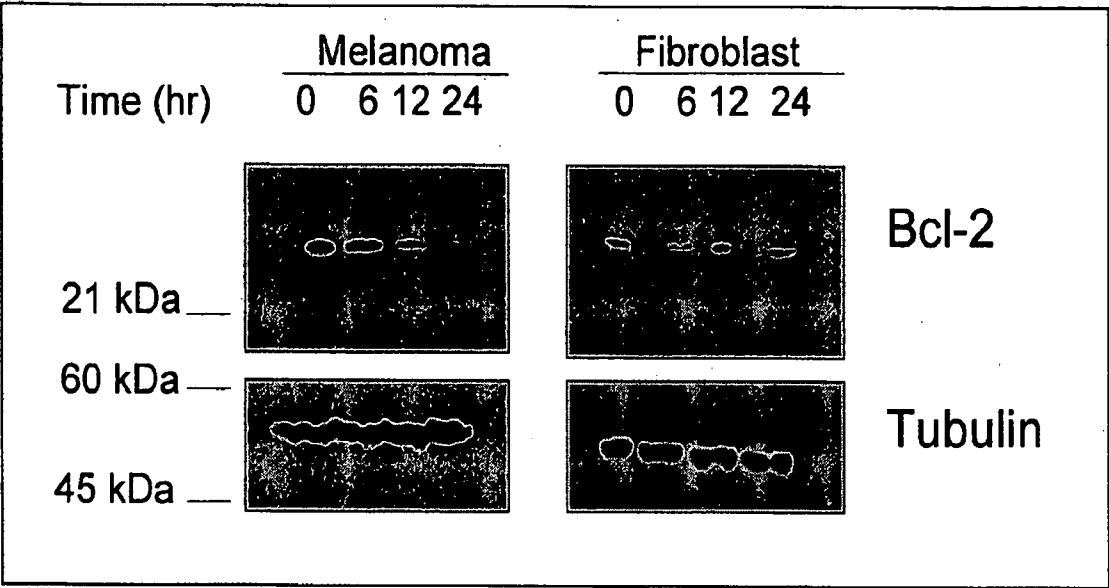


Figure 3

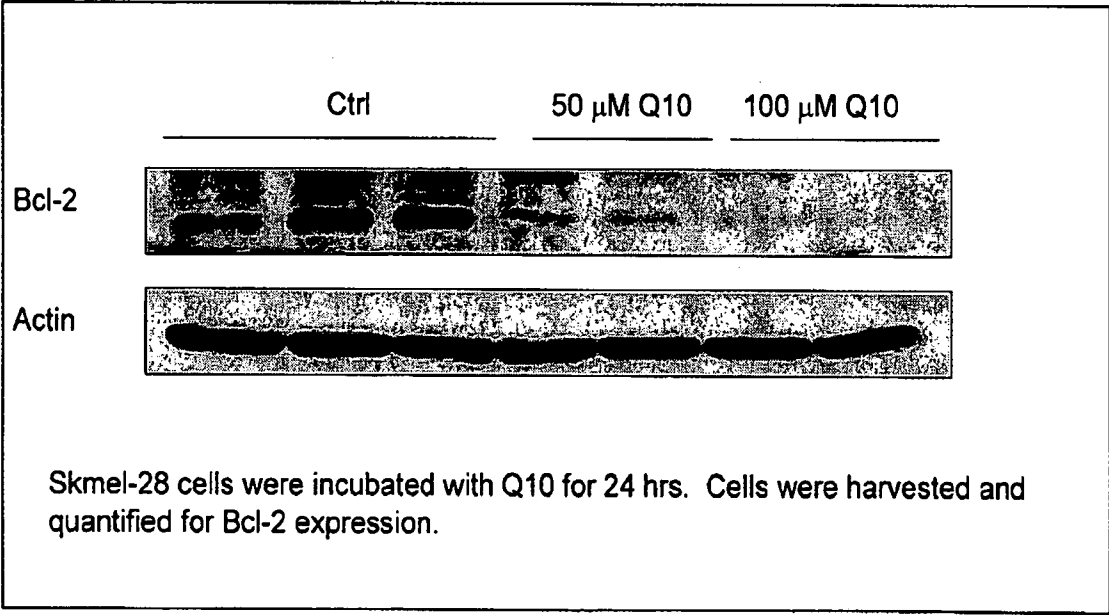


Figure 4

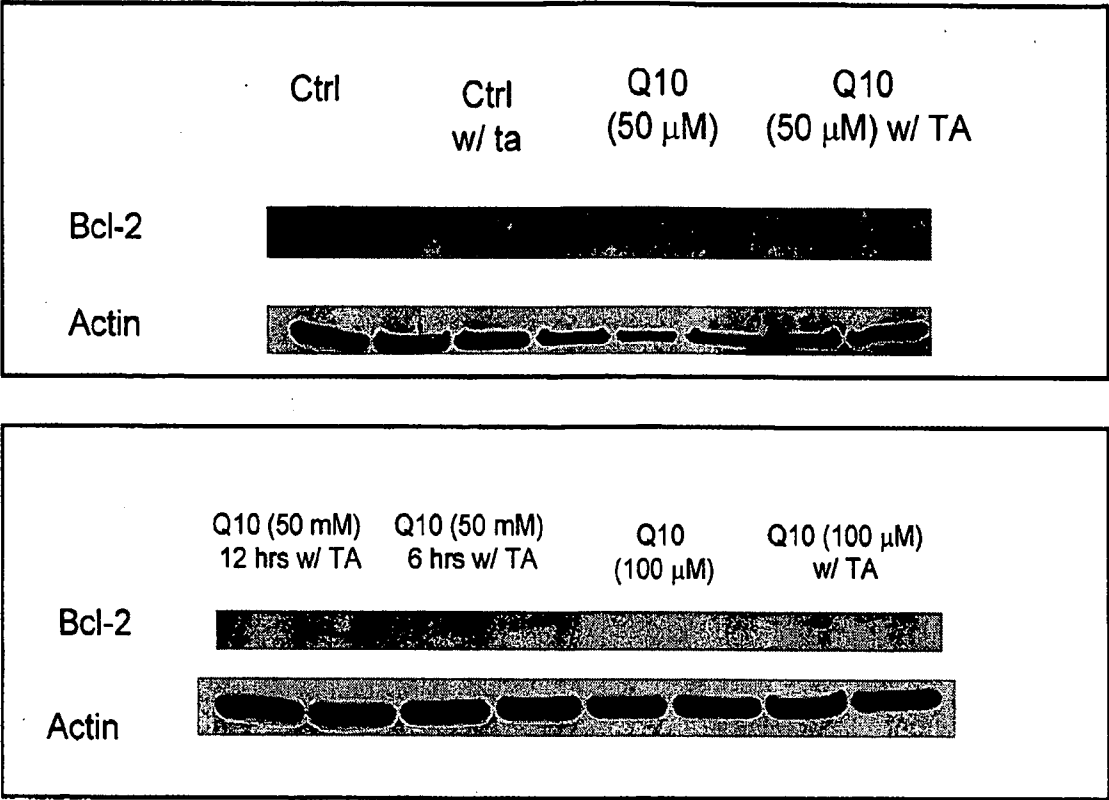


Figure 5

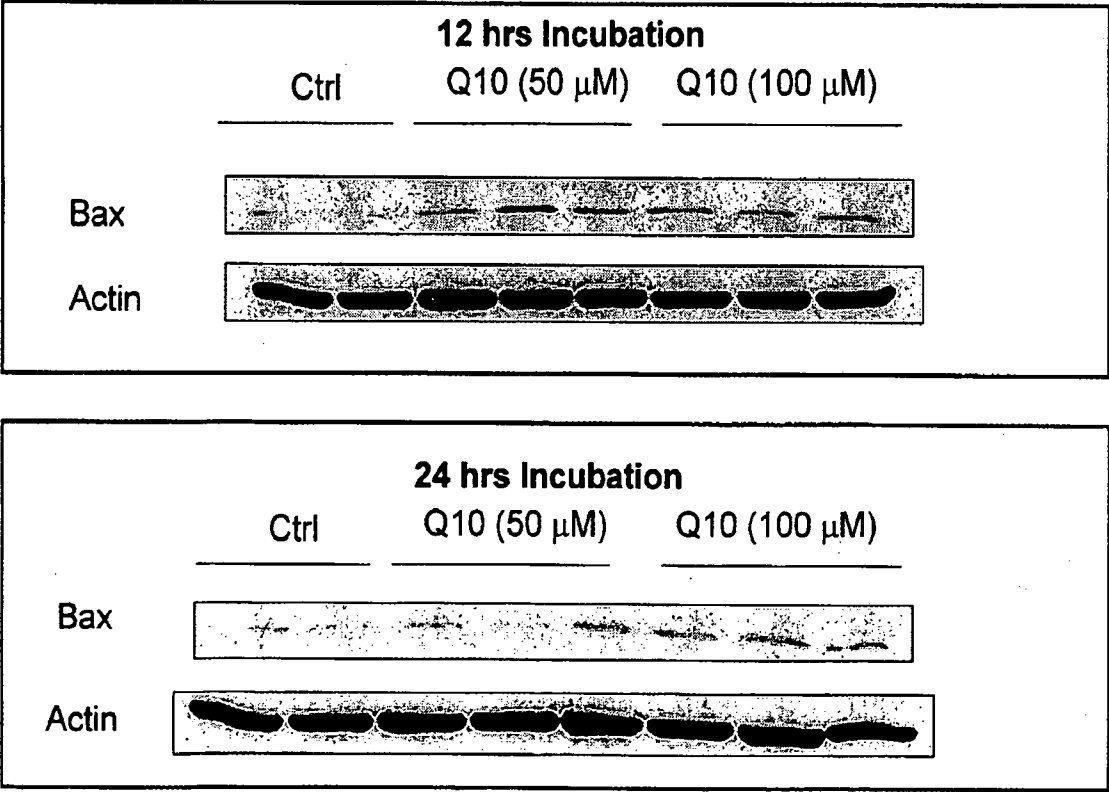


Figure 6

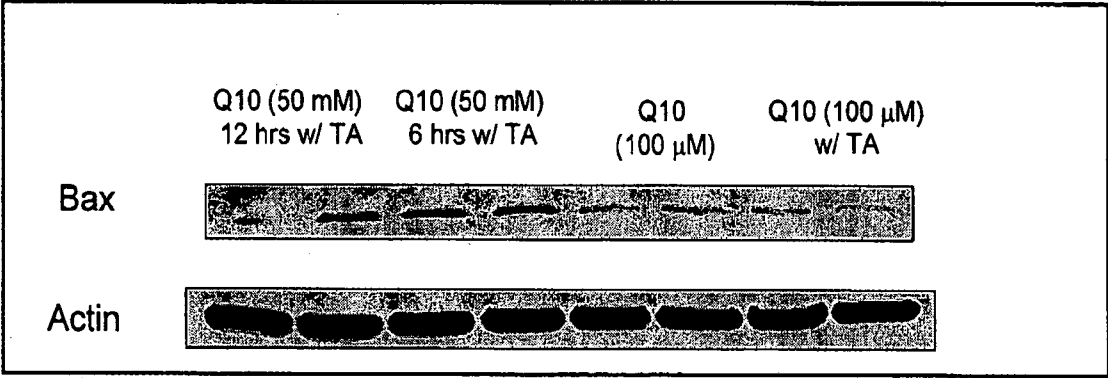
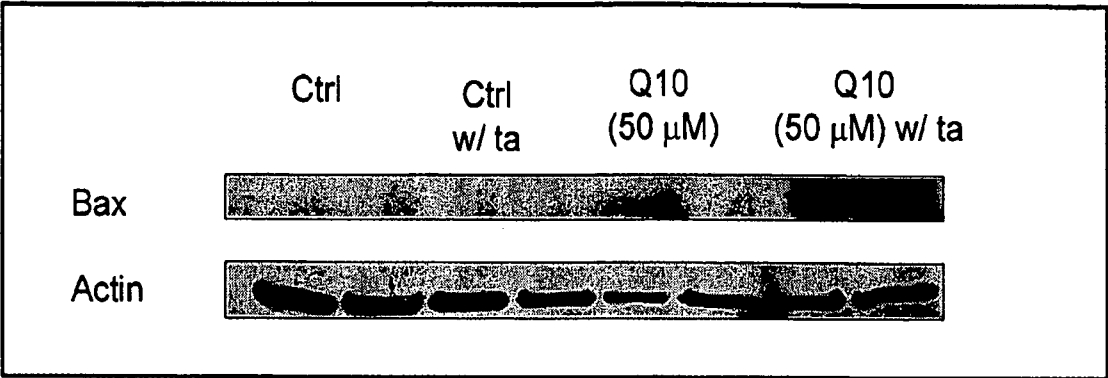


Figure 7

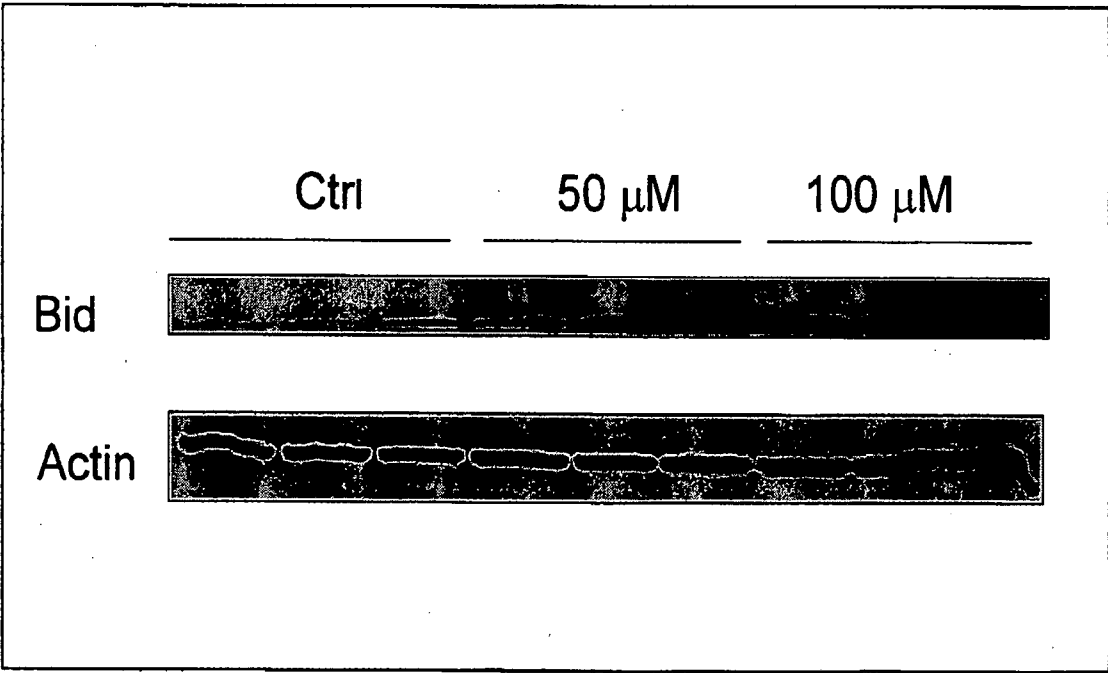
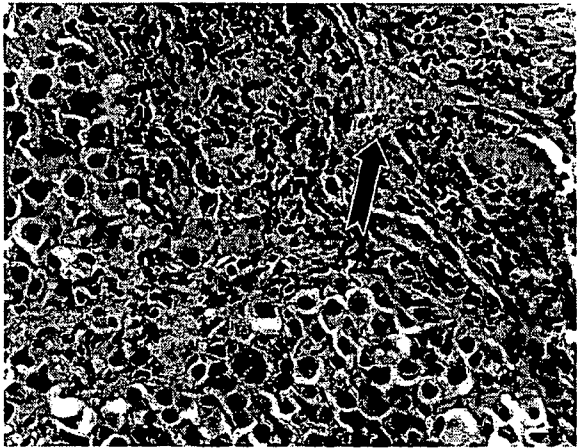


Figure 8

43

**Reduction in Angiogenesis in
Melanoma tumors treated with**

Ctrl



Treatment

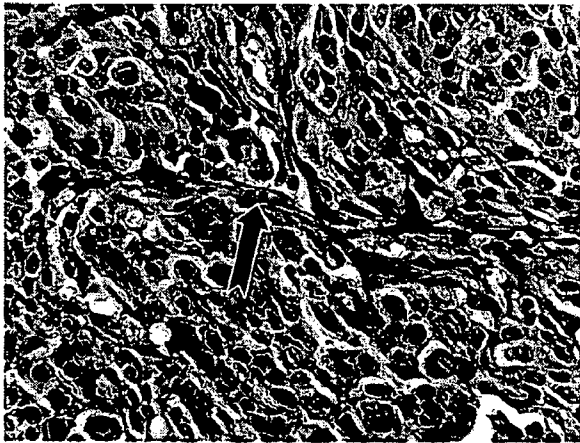


Figure 9

44

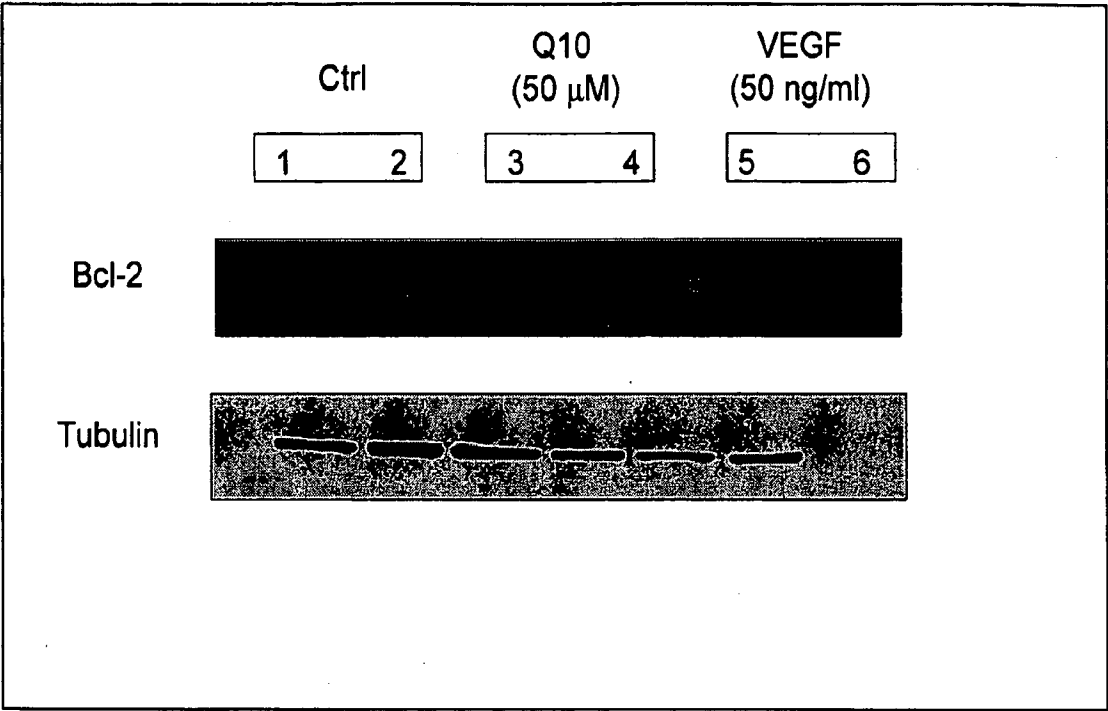


Figure 10a

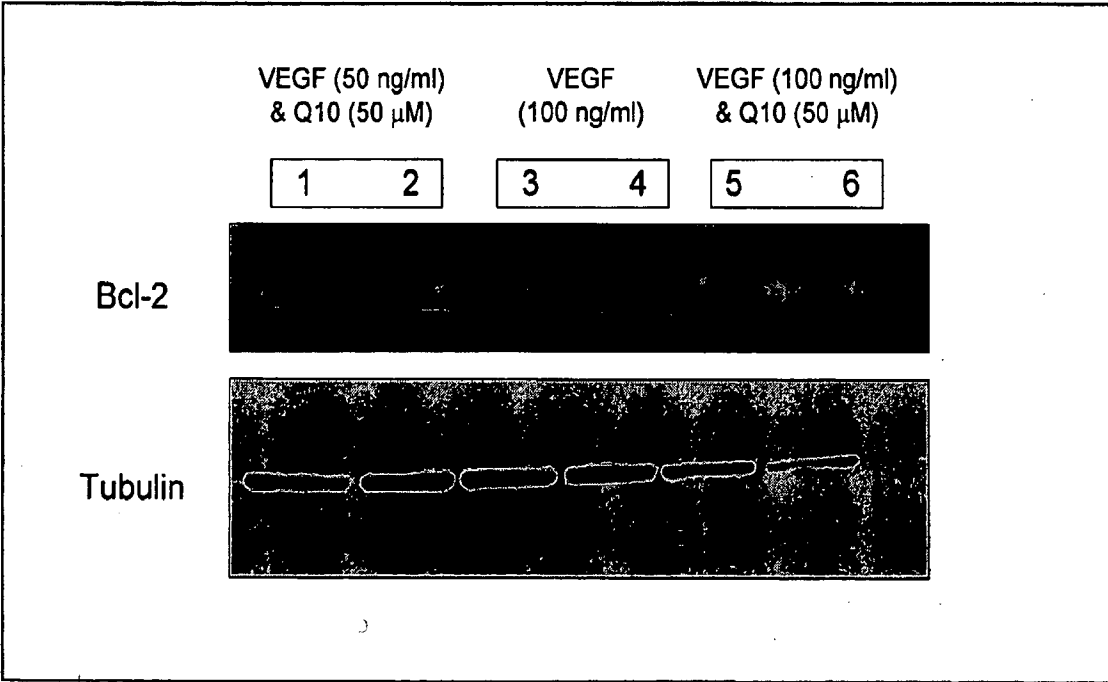


Figure 10b

45

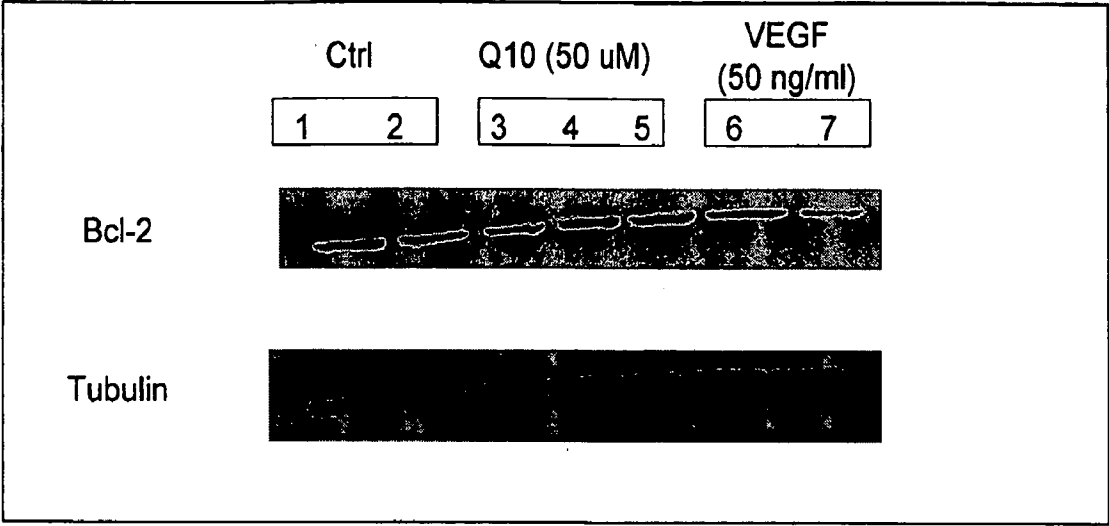


Figure 10c

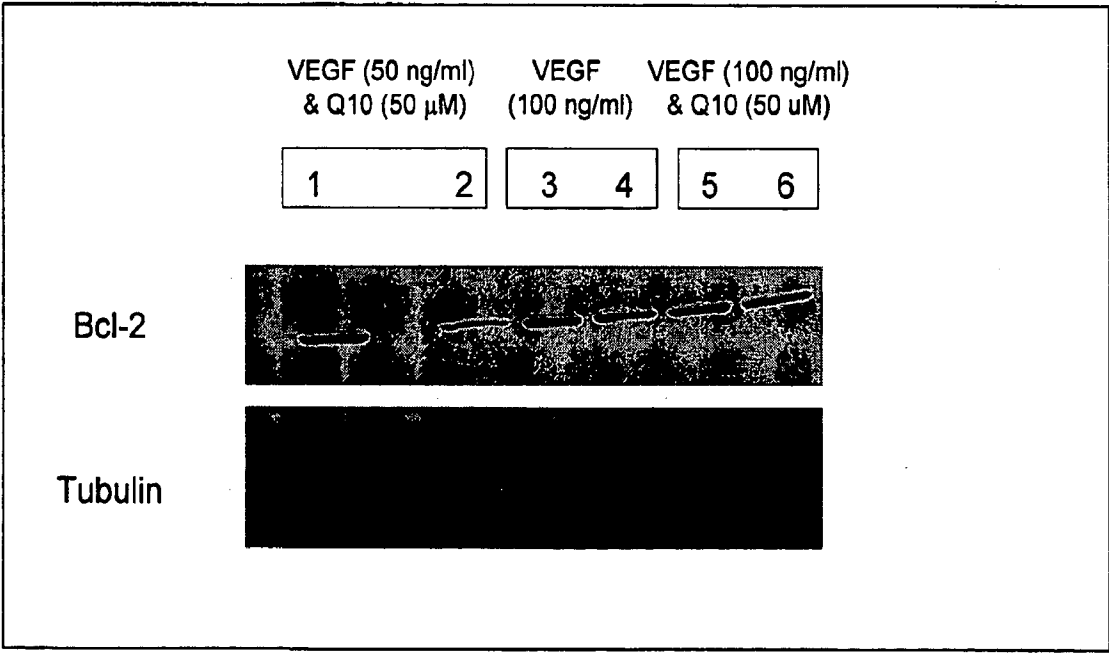


Figure 10d

46

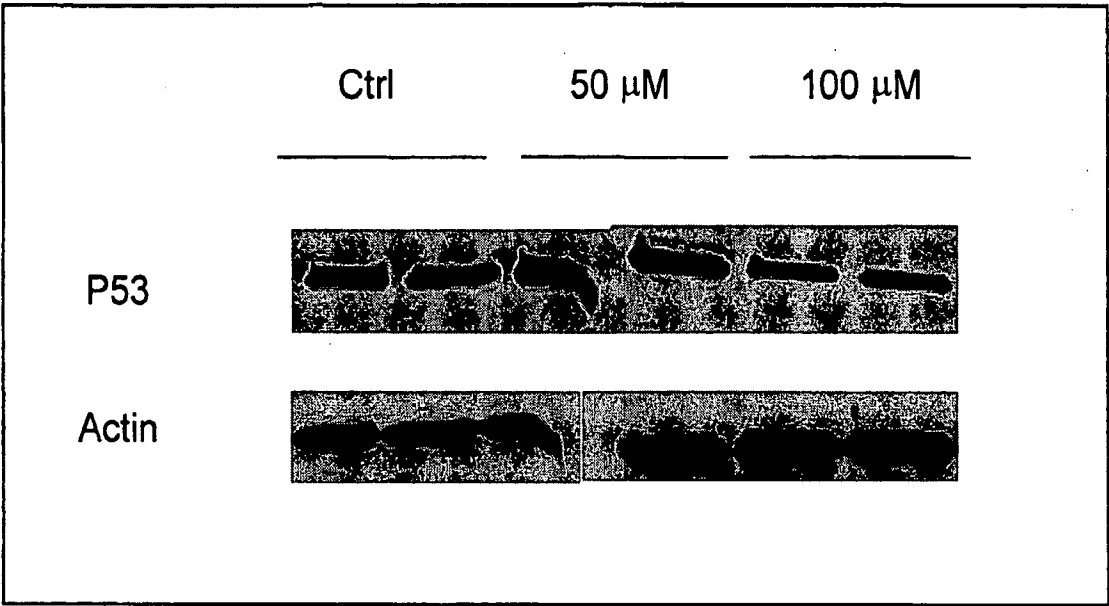


Figure 11

P53 expression for Melanoma cells incubated with Coenzyme Q10 for 12 hours

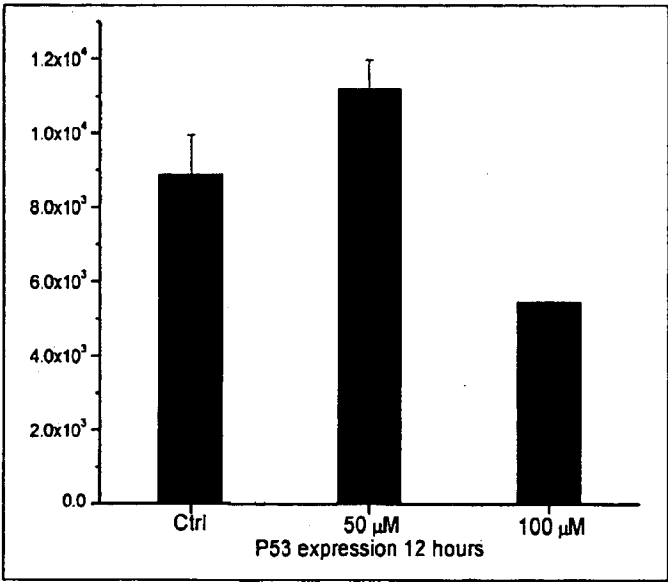


Figure 12

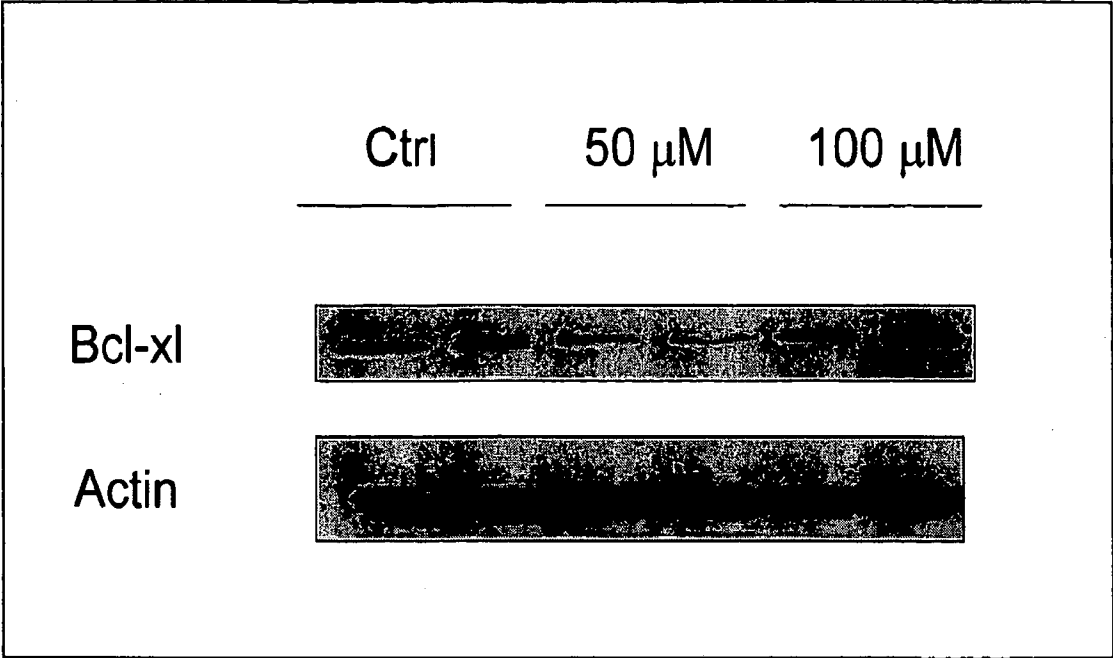


Figure 13

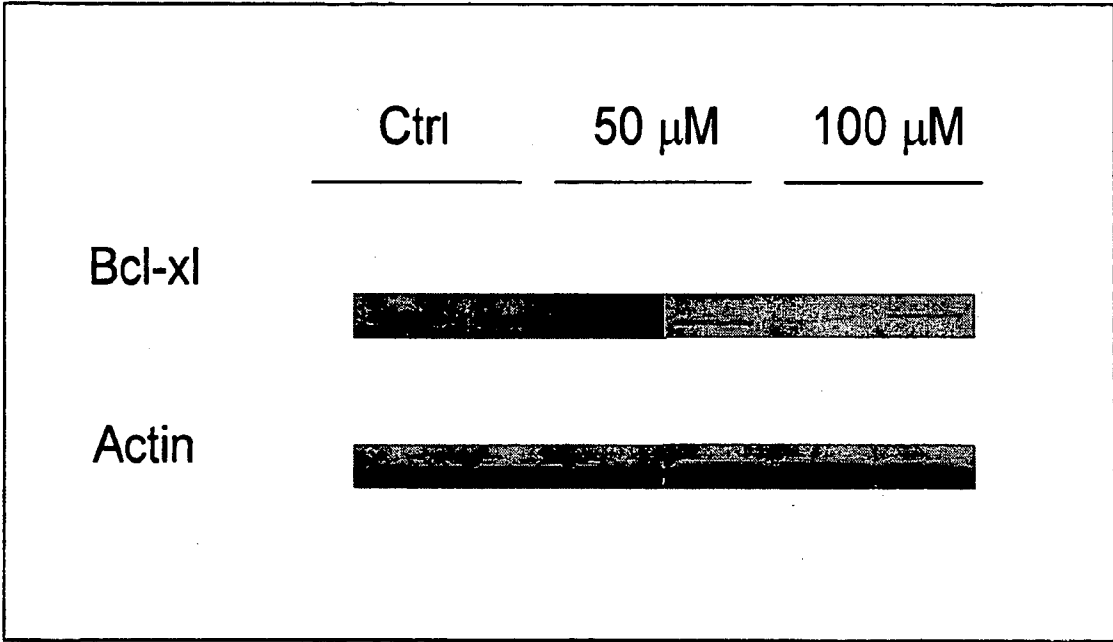


Figure 14

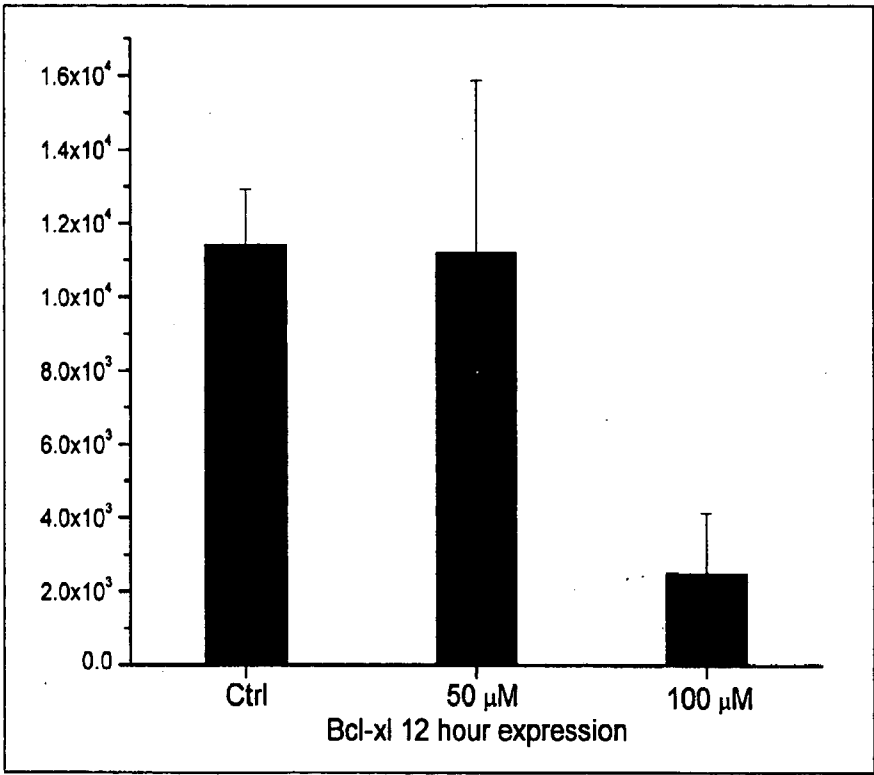


Figure 15

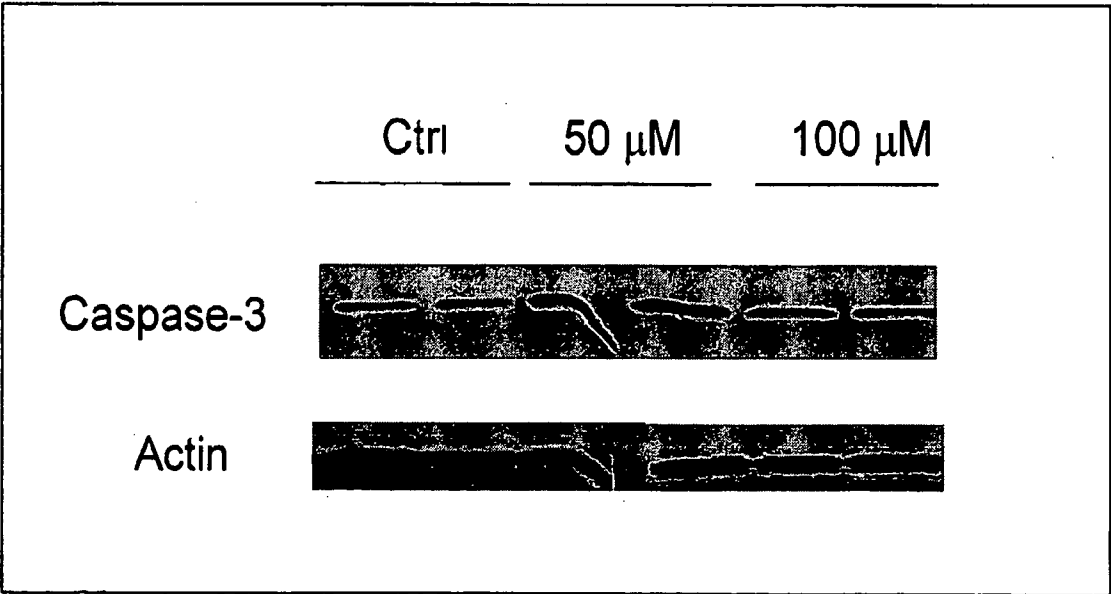


Figure 16

49

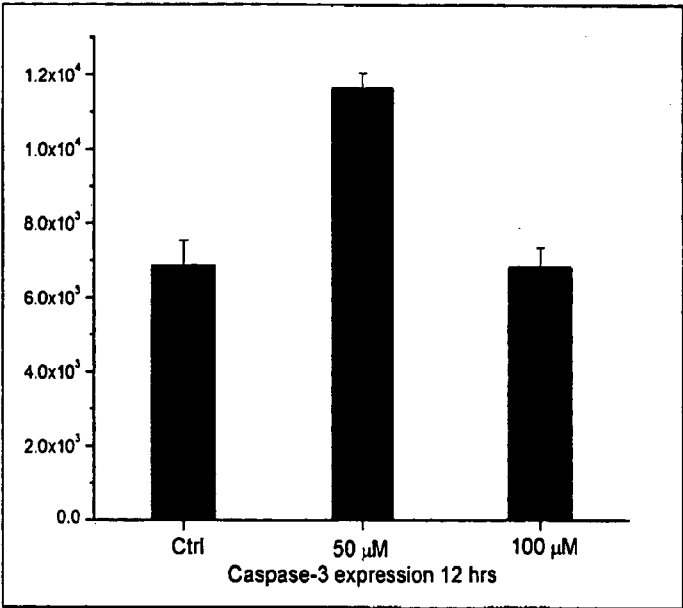


Figure 17

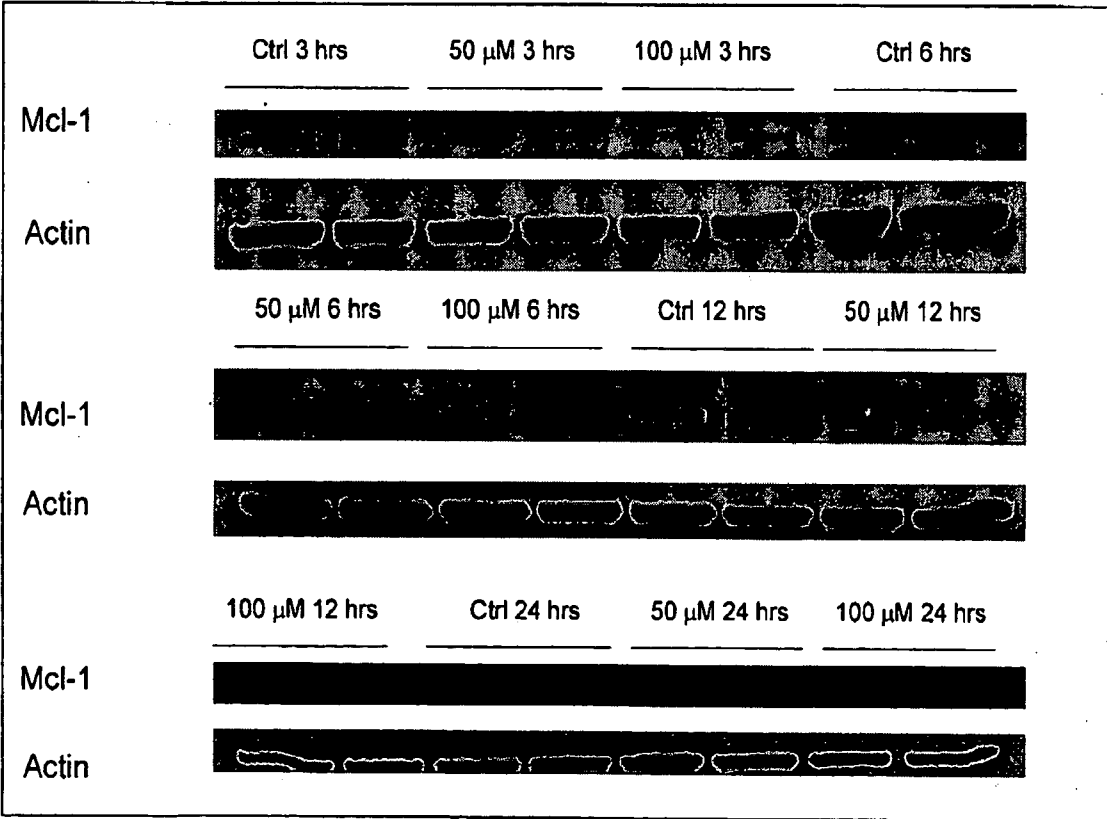


Figure 18

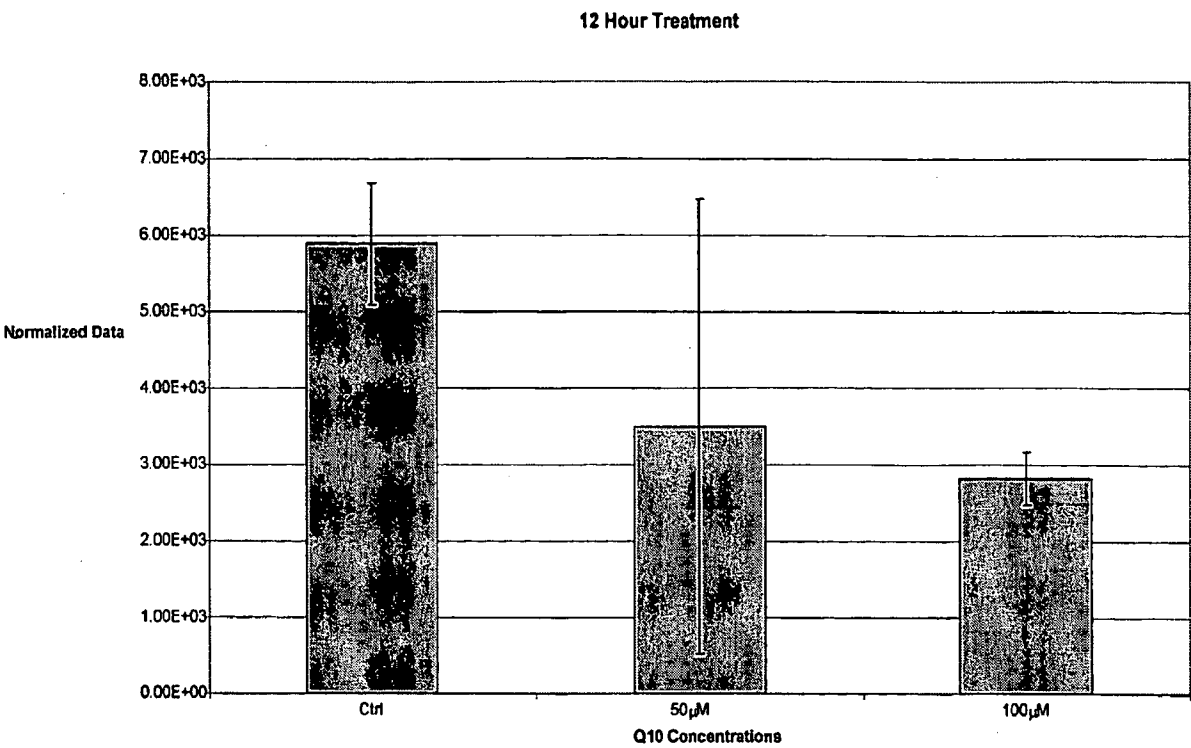


Figure 19a

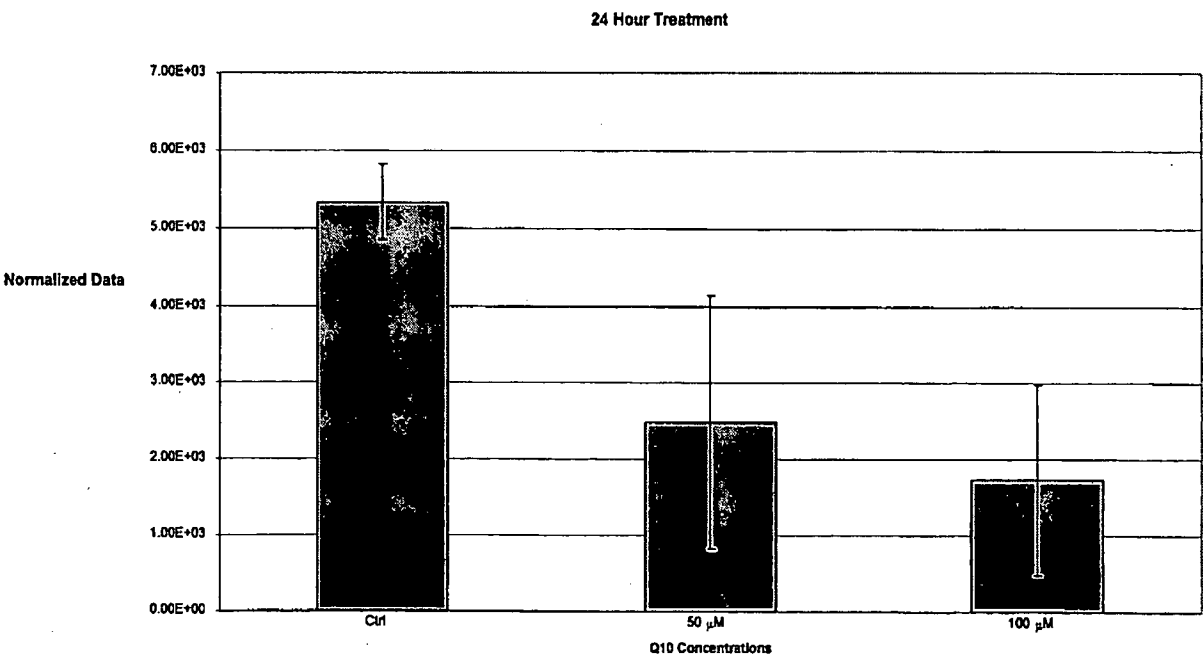


Figure 19b

51

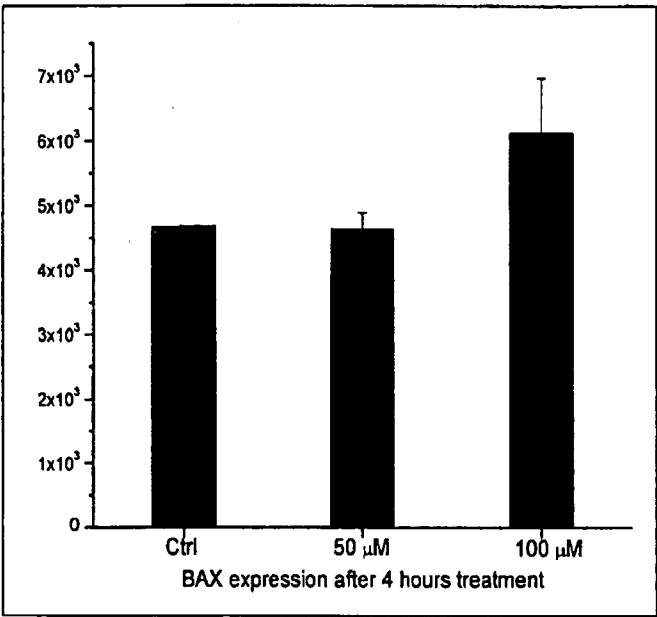


Figure 20

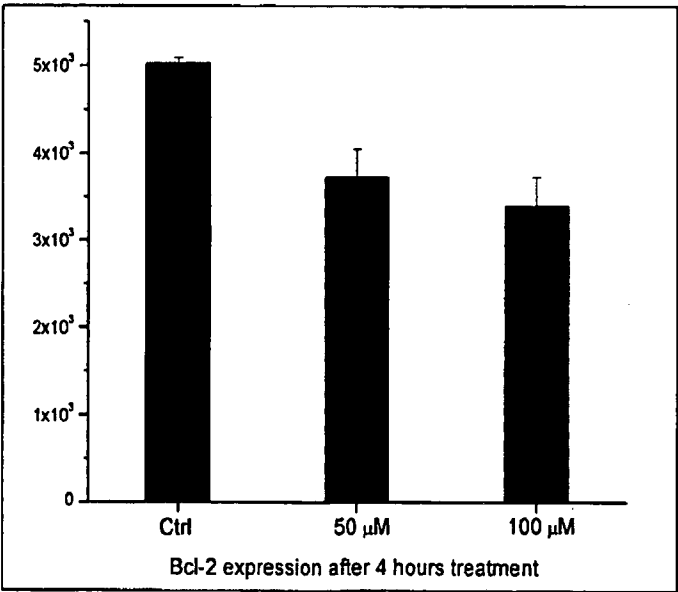


Figure 21

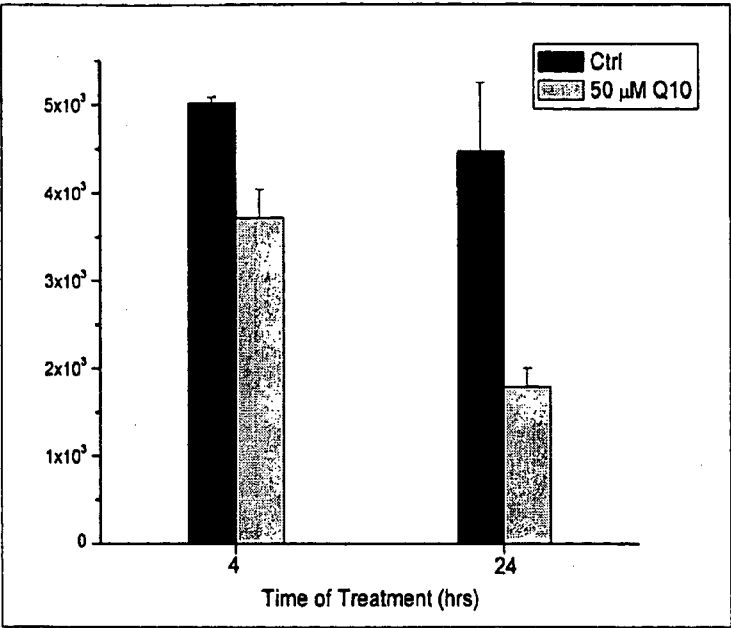


Figure 22

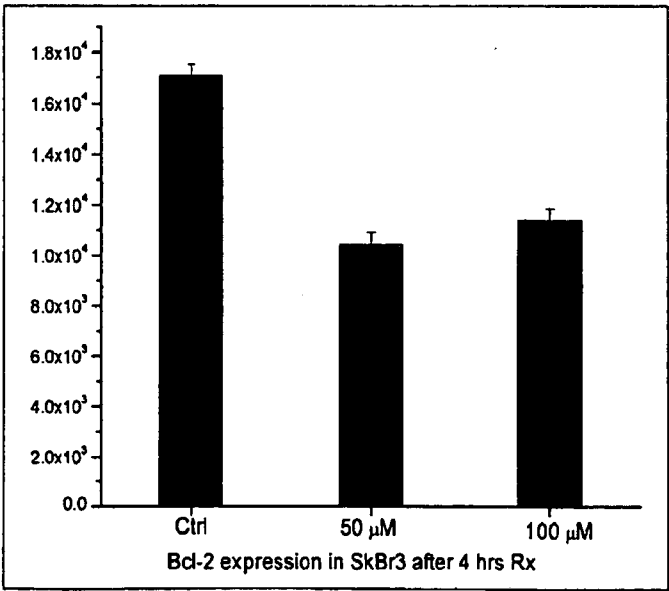


Figure 23

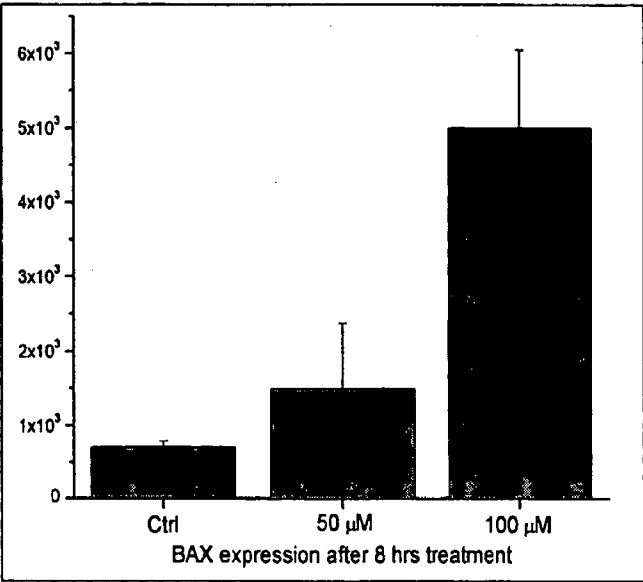


Figure 24

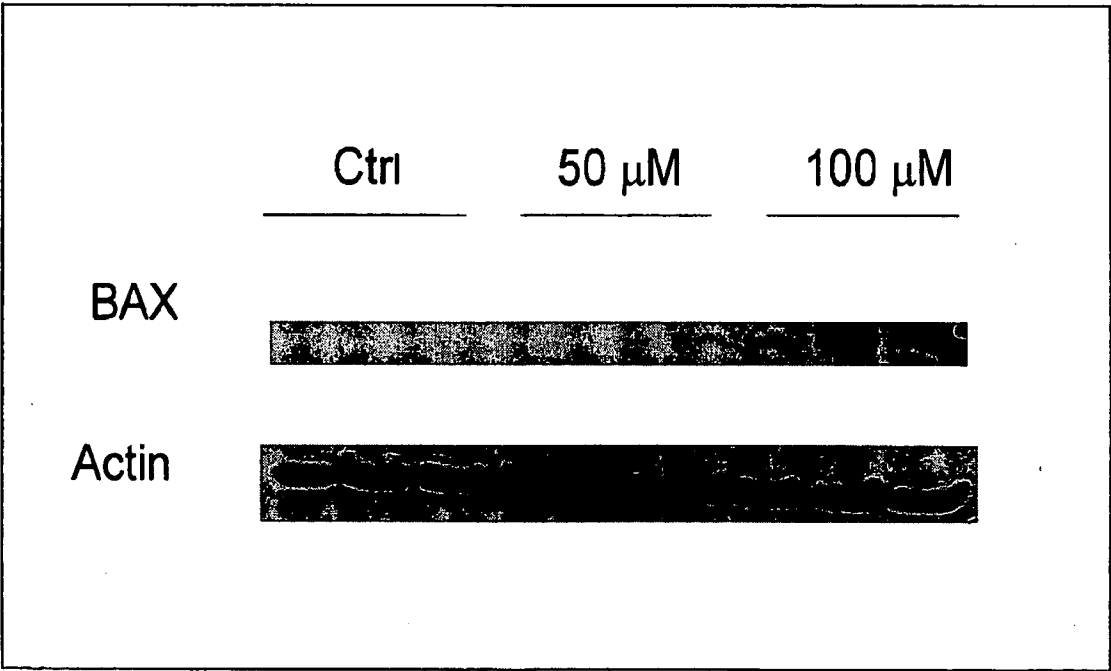


Figure 25

54

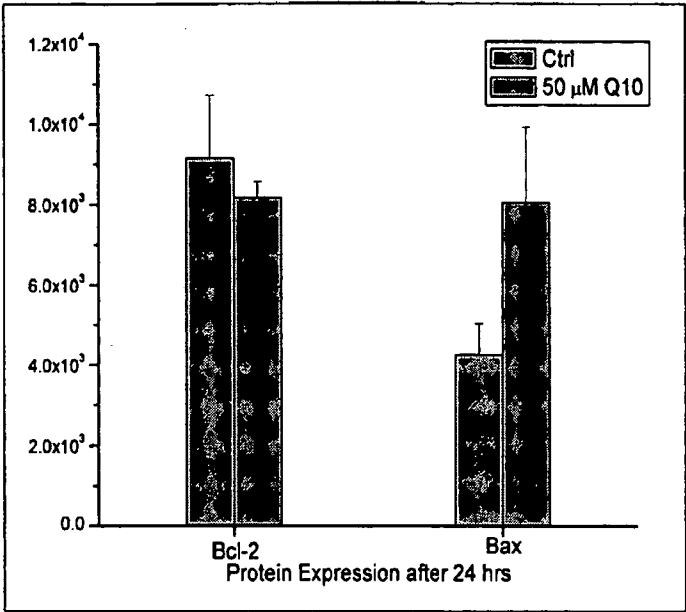


Figure 26

MÉTODOS Y USO DE INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULASCANCERÍGENAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud reclama el beneficio de, y prioridad para, la Solicitud Provisional de E.U.A. No. 61/044,085, presentada el 11 de abril de 2008, toda la descripción de la cual se incorpora por referencia en la presente.

10 ANTECEDENTES

La muerte celular programada (apoptosis) es integral a la sustancia de vida dado que la renovación constante de tejido provee un armazón fisiológico para el metabolismo regenerativo. La apoptosis facilita el balance homeostático de renovación celular permitiendo la salud general del tejido de manera que se mantiene la integridad de componentes proliferativos, inmunomoduladores y angiogénicos de metabolismo de tejido. Una desregulación en cualquiera de, o una combinación de, los procesos mencionados antes pueden dar como resultado una falta de control apoptotico. Dicha falta de control apoptotico, opcionalmente en combinación conmutaciones genéticas, puede dar como resultado un ambiente oncogénico favorable.

Bajo condiciones saludables, el "vigilante" de genomas, p53, reconoce cuando se compromete la integridad de una célula y la asigna a apoptosis vía el empleo de la familia de proteína Bcl-2 en la mitocondria conduciendo a fragmentación nuclear. Véase, v.gr., Selivanova, y otros, "Reactivation of mutant p53: molecular mechanisms and therapeutic potential", Oncogene (2007) 26, 2243-2254.

Además, el balance de los miembros apoptóticos "por" y "anti" de la familia de proteínas Bcl-2 puede determinar el potencial apoptotico general para una célula. En más del 60% de todos los cánceres, p53 se muta o inactiva y la proteína Bcl-2 se sobre-expresa, conduciendo a una resistencia a la muerte celular y enfoques quimioterapéuticos.

Se ha mostrado que los pacientes con cáncer tienen un nivel de suero disminuido general de CoQ10 que conduce signos y síntomas de malestar, debilidad y letargo, especialmente cuando se usan modalidades quimioterapéuticas. Ver, por ejemplo, Okamoto y otros, "Serum levels of coenzyme Q10 and lipids in patients during total parenteral nutrition" J Nutr Sci Vitaminol (Tokio), (1986) Feb.; 32(1):1-12. Los estudios de la Universidad de Miami usando un modelo de ratón atómico han demostrado que una formulación liposomal de CoQ10 redujo tumores de melanoma humano por 53.2% en 30 días mientras que se observó una atenuación general de angiogénesis tumoral. Ver., por ejemplo, Persaud, y otros, "Attenuation of tumor angiogenesis in murine melanoma model using liposomal formulation of Coenzyme Q10" Proceedings of the American Association for Cancer Research, (1006); 47:A977. Además, se mostró subsiguientemente que el efecto de CoQ10 se medió por una desregulación de la proteína Bcl-2. Véase, por ejemplo, Narain, y otros, "Coenzyme Q10: A novel Bcl-2 drug target for the treatment of melanoma", Proceedings of the American Association for Cancer Research, (1006); 47:A791.

Se han desarrollado fármacos que se dirigen a la familia de proteína Bcl-2 ya sea por inhibición directa de anticuerpos o por el uso de construcciones específicas que

interfieren con la unión, lo cual puede conducir a dimerización u oligomerización, en un esfuerzo para restaurar el balance de proteínas pro- y anti-apoptotica. Véase, por ejemplo, Patentes de E.U.A. Nos. 6,514,761 y 6,040,181. Sin embargo, esto no es alterar fundamentalmente los niveles corriente arriba de los miembros apoptóticos principales de la familia de proteínas Bcl-2, tales como Bcl-2, Bax y Bisd, siguiendo una reactivación de p53 que permite que la célula dada se someta a apoptosis.

10

SUMARIO

La presente descripción describe un método para suministrar CoQ10 o sus metabolitos en una célula y formando un complejo con CoQ10 endógeno y lípidos de membrana que inducen a la activación de p53 y el inicio de apoptosis mediada por Bcl-2 en una célula cancerígena por modulación de los miembros de la subfamilia Bcl-2.

En las modalidades, la presente descripción provee una composición que incluye CoQ10 y liposomas de fosfolípidos que se une a lípidos endógenos que mantienen la integridad de la membrana tal como ácido oleico además de ácido mevalónico y quinonas. La presente descripción también se dirige a métodos para activar p53 y modular la expresión de la familia de proteínas Bcl-2 en una forma que compromete a una célula dada a someterse a apoptosis en donde la célula es una célula oncogénica.

En las modalidades, la presente descripción provee una composición para el tratamiento de cáncer incluyendo CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición incluye entre

aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

En otras modalidades, la composición puede tener la forma de un gel, ungüento, crema, bálsamo, mouse, espuma, 5 aspensor y/o aerosol, líquido (intravenoso), polvo nebulizado, supositorio, o cualquier otra ruta parenteral comercialmente factible.

En otras modalidades, la presente descripción provee un método para tratar cáncer que incluye administra a 10 un paciente que necesita del mismo, una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En modalidades, la composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima 15 Q10.

En otras modalidades, la presente descripción provee un método para poner en contacto CoQ10 endógeno administrando a un paciente que necesita del mismo, una composición que incluye una cantidad terapéuticamente 20 efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. La composición puede incluir entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

La presente descripción también provee un método 25 para dirigirse a la familia de Ccl-2 de proteínas que incluye administrar a un paciente que necesita de la misma una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las modalidades, la 30 composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60 (p/p) de Coenzima Q10.

La presente descripción también provee un método para reactivar la proteína p53 que incluye administrar a un paciente que necesita de la misma una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las modalidades, la composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

La presente descripción también provee un método para modular los dominio de unión de BH3 a la familia Bcl-2 (v.gr., Bid, Bim, Bik) administrando a un paciente que necesita de la misma, una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las modalidades, la composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

Los métodos para modular la proteína Bax también se proporcionaron, los cuales incluyen, en las modalidades, administrar a un paciente que necesita de lo mismo, una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las modalidades, la composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

La presente descripción también provee un método para modular factores angiogénicos tales como VEGF, FGF, Hif-1 α y angiostatina administrando a un paciente que necesita de la misma una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las

modalidades, la composición incluye entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

En otra modalidad, un método para modular factores del ciclo celular tales como proteínas SMAD, TGF- β , cdk
5 (quinasas que dependen de ciclinas) y P13K/akt administrando a un paciente que necesita de los mismos, una composición que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de CoQ10, liposomas y un vehículo farmacéuticamente aceptable al área de oncogénesis. En las modalidades, la composición incluye
10 entre aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las ventajas anteriores y adicionales de esta
15 descripción se pueden entender mejor haciendo referencia a la siguiente descripción tomada junto con los dibujos anexos, en los cuales:

La Figura 1 es una descripción de la síntesis metabólica de CoQ10;

20 La Figura 2 es un resumen de las interacciones de Bax, P53 y Bcl-2 en la inducción de apoptosis;

La Figura 3 muestra la expresión de Bcl-2 en células de melanoma y 50 M CoQ10;

La Figura 4 muestra la expresión de Bcl-2 en
25 células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ Nm CoQ10 durante 24 horas;

La Figura 5 muestra la expresión de Bcl-2 en células de melanoma tratadas en presencia y ausencia de CoQ10 usando el método de Resta (TA, por sus siglas en inglés). En
30 los experimentos de TA las células de melanoma se trataron con CoQ10 durante 6, 12, y 24 horas. Después de incubación el

medio se reemplazó con medio de cultivo normal durante 24 horas. La expresión de Bcl-2 se midió para evaluar la responsabilidad de apoptosis;

La Figura 6 muestra expresión de Bax en células de melanoma después de 12 y 24 horas de incubación con CoQ10 (50 μ M y 100 μ M);

La Figura 7 muestra expresión de Bax en células de melanoma tratadas en presencia y ausencia de CoQ10 usando el método de Resta (TA) de 24 horas. En los experimentos de TA se trataron células de melanoma con CoQ10 durante 6, 12 y 24 horas. Después de la incubación se reemplazó el medio con medio de cultivo normal durante 24 horas. La expresión de Bax se midió para evaluar la implicación en apoptosis;

La Figura 8 muestra la expresión de Bid en células de melanoma después de 12 horas de incubación con CoQ10;

La Figura 9 muestra el análisis de histopatología de tumores de melanoma humano inducido en ratones desnudos atímicos. El grupo de tratamiento recibió una aplicación tópica de CoQ10 durante 30 días. El análisis de la patología tumoral indica una alteración en vasculatura de tumoral;

Las Figuras 10a-10d muestran la expresión de Bcl-2 en células de melanoma incubadas con CoQ10 y/o Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) durante 24 horas;

La Figura 11 muestra la expresión de p53 en células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ M Coq10 durante 24 horas;

La Figura 12 es una gráfica que describe la expresión de p53 en células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ M CoQ10 durante 12 horas;

La Figura 13 muestra la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 6 horas;

La Figura 14 muestra la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 12 horas;

La figura 15 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma tratadas durante
5 12 horas con CoQ10;

La Figura 16 muestra la expresión de Caspase-3 en células de melanoma tratadas durante 12 horas con CoQ10;

La Figura 17 es una gráfica que cuantifica la expresión de Caspase-3 en células de melanoma tratadas
10 durante 12 horas con CoQ10;

La Figura 18 muestra la expresión de Mcl-1 en células de melanoma tratadas con la Coenzima Q10 durante 3, 6, 12 y 24 horas;

La Figura 19a es una gráfica que cuantifica la
15 expresión de Mcl-1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 12 horas; la Figura 19b es una gráfica que cuantifica la expresión de Mcl-1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 24 horas;

La Figura 20 es una gráfica que cuantifica la
20 expresión de BAX en células PC-3 (cáncer de próstata) incubadas durante 4 horas con CoQ10;

La Figura 21 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-2 en células de PC-3 incubadas durante 4 horas con CoQ10;

25 La Figura 22 es una gráfica que muestra la comparación de punto de tiempo de la expresión de Bcl-2 en las células PC-3 tratadas con CoQ10 durante 4 y 24 horas;

La Figura 23 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-2 en células SkBr-3 (cáncer de mama)
30 incubadas durante 4 horas con CoQ10;

La Figura 24 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bax en células SkBr-3 incubadas durante 8 horas con CoQ10;

La Figura 25 muestra la expresión de Bax en las
5 células SkBr3 con CoQ10 durante 8 horas;

La Figura 26 es una gráfica que compara la expresión de Bcl-2 y Bax después de 24 horas de tratamiento con CoQ10.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente descripción provee composiciones farmacéuticas que incluyen Coenzima Q10 (CoQ10) y métodos para ligarse a moléculas de lípidos endógenas para modular la maquinaria molecular que se refiere a un estado oncogénico.
15 El alcance de la presente descripción se refiere a los campos de medicina molecular y oncología específicos para modulación de genes de la ruta de p53 y familia de genes Bcl-2.

Definiciones

De acuerdo con la presente descripción y como se
20 usa en la presente, los siguientes términos se definen con el siguiente significado, a menos que se establezca explícitamente lo contrario.

Como se usa en la presente, "un", "uno" y "el" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique
25 claramente lo contrario.

Como se usa en la presente, un componente "farmacéuticamente aceptable" es uno que es adecuado para usarse con seres humanos y/o animales sin los efectos laterales adversos indebido (tales como toxicidad, irritación
30 y respuesta alérgica) conmensurada con una relación de beneficio/riesgo razonable.

64

Como se usa en la presente, el término "cantidad segura y terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de un componente que es suficiente para dar una respuesta terapéutica deseada sin efectos laterales adversos indebidos (tales como toxicidad, irritación, o respuesta alérgica) vinculada con una relación de beneficio/riesgo razonable cuando se usa en la forma de esta descripción. Por "cantidad terapéuticamente efectiva" se entiende una cantidad de un compuesto de la presente descripción efectiva para dar la respuesta terapéutica deseada. Por ejemplo, curación acelerada de heridas, alivio de dolor y fatiga. La cantidad segura y efectiva específica o cantidad terapéuticamente efectiva variará con dichos factores a medida que la condición particular que está siendo tratada, la condición física del paciente, el tipo de mamífero o animal que está siendo tratada, la duración del tratamiento, la naturaleza de terapia concurrente (si hay alguna) y formulaciones específicas empleadas y la estructura de los compuestos o sus derivados.

Como se usa en la presente, una "sal farmacéutica" incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales adecuadas pueden realizarse usando un ácido orgánico o inorgánico. Dichas sales incluyen cloruros, bromuros, sulfatos, nitratos, fosfatos, sulfonatos, formatos, tartratos, maleatos, malatos, citratos, benzoatos, salicilatos, ascorbatos y similares. En las modalidades, se puede utilizar la sal de clorhidrato.

"Diagnóstico" o "diagnosticado" significan identificar la presencia o naturaleza de una condición

65

patológica. Los métodos de diagnóstico defieren en su sensibilidad y especificidad. La "sensibilidad" de un análisis de diagnóstico es el porcentaje de los individuos enfermos quienes tienen resultado de prueba positiva (porcentaje de "positivos reales"). Los individuos enfermos no detectados por el análisis son "negativos falsos". Los sujetos que no están enfermos y cuya prueba da negativo en el análisis, se llaman "negativos reales". La "especificidad" de un análisis de diagnóstico es 1 menos el régimen falso positivo, en donde el régimen "falso positivo" se define como la proporción de aquellos sin la enfermedad quien da pruebas positivas. Mientras que un método de diagnóstico particular no puede proveer un diagnóstico definitivo de una condición, es suficiente si el método provee una indicación positiva que ayuda al diagnóstico.

Los términos "paciente" o "individuo" se utilizan en la presente intercambiablemente y se refiere a un sujeto mamífero que será tratado, los pacientes humanos siendo adecuados en algunas modalidades. En algunos casos, los métodos de la presente descripción encuentran uso en animales experimentales, en aplicación veterinaria y en el desarrollo de modelos animales para enfermedad, incluyendo, pero no limitado a, roedores incluyendo ratones, ratas y hámsteres; y primates.

"Muestra" se usa en la presente en su sentido más amplio. Una muestra que incluye polinucleótidos, polipéptidos, péptidos, anticuerpos y similares, puede incluir un fluido corporal; una fracción soluble de una preparación celular, o medios en los cuales se desarrollaron las células; un cromosoma, un organelo, o membrana aislada o extraída de una célula; ADN genómico, ARN o cADN,

polipéptido, o péptidos en solución unido a un sustrato; una célula; un tejido; una impresión de tejido; una huella digital, piel o cabello; y similares.

"Tratamiento" es una intervención realizada con la intención para vitar el desarrollo o alterar la patología o síntomas de un trastorno. Consecuentemente, "tratamiento" se refiere al tratamiento terapéutico y medidas profilácticas o preventivas. Los que necesitan el tratamiento incluye las que ya son el trastorno así como aquellos en las cuales el trastorno será evitado. Como se usa en la presente, "aliviado" o "tratamiento" se refiere a un síntoma que se acerca a un valor normalizado (por ejemplo, un valor obtenido en un paciente o individuo saludable), v.gr., es menor a 50% diferente de un valor normalizado, en las modalidades menores a aproximadamente 25% diferentes a un valor normalizado, en modalidades menor a aproximadamente 25% diferentes de un valor normalizado, en otras modalidades es menor a 10% diferentes de un valor normalizado y en aún otras modalidades la presencia de un síntoma no es significativamente diferente de un valor normalizado como se determina usando pruebas estadísticas de rutina.

Como se usa en la presente, "un síntoma aliviado" o "síntoma tratado" se refiere a un síntoma que se acerca a un valor normalizado, v.gr., es menor a 50% diferente de un valor normalizado, en las modalidades en donde es menor a aproximadamente 25% diferente de un valor normalizado, en otras modalidades es menor a 10% diferentes de un valor normalizado y en aún otras modalidades la presencia de un síntoma no es significativamente diferente de un valor normalizado como se determina usando pruebas estadísticas de rutina.

Sujetos

Los sujetos para muchas especies diferentes pueden ser tratados con las composiciones de la presente descripción. Una lista ilustrativa no exhaustiva de dichos animales incluye mamíferos tales como ratones, ratas, conejos, cabras, ovejas, cerdos, caballos, ganado vacuno, perros, gatos y primates tales como monos, simios y seres humanos. Los sujetos animales que se sabe que sufren de fatiga muscular, dolor, heridas y similares, pueden ser adecuados para usarse en la presente descripción. Adaptando los métodos enseñados en la presente a otros métodos conocidos en medicina o ciencia veterinaria (v.gr., ajustando dosis de sustancias administradas de acuerdo con el peso del sujeto animal), las composiciones utilizadas en la presente descripción pueden optimizarse fácilmente para el uso en otros animales.

Composiciones Farmacéuticos y Administración a un Sujeto

En las modalidades, la presente descripción provee composiciones de CoQ10 para el tratamiento y prevención de cáncer. Las preparaciones transdérmicas, orales, intravenosas y otras preparaciones parenterales de 2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona (coenzima Q-10) pueden incluir, entre otros, agentes auxiliares, una cantidad efectiva de agente tensioactivo pulmonar y/o estar en combinación con liposomas.

En modalidades, las composiciones que incluyen CoQ10 pueden administrarse tópicamente. Puede ser conveniente presentar el ingrediente activo, v.gr., CoQ10, como una formulación farmacéutica. Las composiciones ilustrativas se

describen en detalle en los siguientes ejemplo, El ingrediente activo puede incluir, para administración tópica, de 0.001% a alrededor de 60% p/p, en peso de la formulación en el producto final, aunque puede incluir tanto como 80% p/p, en modalidades de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% p/p de la formulación. Las formulaciones tópicas de la presente descripción, incluyen un ingrediente activo junto con uno o más vehículos aceptables de los mismos y opcionalmente pueden ser otros ingredientes terapéuticos. El vehículo deberá ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con otros ingredientes de la formulación pero no perjudica el receptor de los mismos.

En algunas modalidades, el CoQ10 puede incluirse en una composición tal como la composición descrita en la Solicitud de Patente de E.U.A. No. 12/052,825, toda la descripción de la cual se incorpora aquí por referencia.

La composición de la presente descripción se puede administrar a un paciente ya sea por si mismos o en composiciones farmacéuticas en donde se mezcla con vehículos o excipientes adecuados. Para tratar a un paciente exhibiendo un trastorno de interés, se administra una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente o agentes tal como el mismo. Una dosis terapéuticamente efectiva se refiere a la cantidad del compuesto que da como resultado la disminución de síntomas o una prolongación de sobrevivencia en un paciente.

La toxicidad y eficacia terapéutica de dichos compuestos puede determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, v.gr., para determinar la LD₅₀ (dosis letal al 50% de la población) y la ED₅₀ (dosis terapéuticamente

69

efectiva en 50% de la población). La relación en dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y puede expresarse como la relación LD_{50}/ED_{50} . Los compuestos que exhiben índices terapéuticos altos pueden ser convenientes. Los datos obtenidos de estos análisis de cultivos celulares y estudios de animales pueden usarse para formar un rango de dosis para usarse en seres humanos. La dosis de dichos compuestos puede ser dentro de un rango de concentraciones de circulación que incluyen la ED_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosis puede variar dentro de este rango dependiendo de la forma de dosis empleada y la ruta de administración utilizada.

Para cualquier compuesto usado en el método de la presente descripción, la dosis terapéuticamente efectiva puede ser inicialmente estimada de análisis de cultivo celular. Por ejemplo, se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un rango de concentración en plasma circulante que incluye IC_{50} como se determina en el cultivo celular. Dicha información se puede usar para determinar con más precisión las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, por HPLC.

La formulación, ruta de administración y dosis exactas se pueden elegir por el médico individual en vista de la condición del paciente. (Véase, por ejemplo, Fingl y otros, en *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 1975, Ch. 1 p. 1). Deberá observarse que el método que atiende puede saber cómo y cuándo terminar, interrumpir o ajustar la administración debido a toxicidad, o a disfunciones de órganos. Inversamente, el médico que atiende también puede saber cómo ajustar el tratamiento a niveles superiores si la respuesta clínica no fuera adecuada (toxicidad excluyente).

70

La magnitud de una dosis administrada en el manejo del trastorno oncogénico de interés variará con la severidad de la condición que será tratada y la ruta de administración. La severidad de la condición, por ejemplo, puede ser evaluada, en parte, por los métodos de valuación de diagnóstico estándar. Además, la dosis y tal vez la frecuencia, también variará de acuerdo con la edad, peso corporal y respuesta del paciente individual. Un programa comparable con el tratado antes para seres humanos se puede usar en medicina veterinaria.

Las composiciones de la presente descripción se pueden aplicar a un paciente por modalidades de tratamiento que se confeccionan al paciente, tal como el tipo de lesión, severidad de lesión, ubicación de la lesión. Por ejemplo, el porcentaje de la composición activa puede modularse durante el transcurso del tratamiento dependiendo de nuevo de la severidad, tipo de lesión, etc. CoQ10, el ingrediente activo, puede incluir, de 0.001% a alrededor de 60% p/p en peso de la formulación en el producto final, aunque puede incluir tanto como 80% p/p, en modalidades de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% p/p de la formulación.

Las composiciones pueden aplicarse a un paciente por lo menos una vez al día. En otras modalidades, se pueden aplicar las composiciones farmacéuticas, dos veces al día, tres veces al día o más. Las veces y composiciones que contienen los ingredientes activos pueden determinarse fácilmente por un clínico.

Dependiendo de las condiciones específicas que serán tratadas, dichos agentes pueden formularse y administrarse sistemática o localmente. La técnica para la formulación y administración pueden encontrarse en Remington's

71

Pharmaceutical Sciences, 18a. ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990). Las rutas adecuadas pueden incluir la administración oral, rectal, transdérmica, vaginal, transmucosal, o intestinal; suministro parenteral, incluyendo
5 inyecciones intramusculares subcutáneas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, o intraocular, solo por nombrar algunas.

Las composiciones descritas antes pueden
10 administrarse a un sujeto en cualquier formulación adecuada. Además del tratamiento de cáncer con formulaciones tópicas de CoQ10, en otros aspectos de la presente descripción CoQ10 puede suministrarse por otros métodos. Por ejemplo, CoQ10 puede formularse para suministro parenteral, v.gr., para
15 inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, o intratumoral. Se pueden usar otros métodos de suministro, por ejemplo, suministro liposomal o difusión de un dispositivo impregnado con la composición. Las composiciones pueden administrarse en un bolo sencillo, inyecciones múltiples, o
20 por infusión continua (por ejemplo, intravenosamente o por diálisis peritoneal). Para la administración parenteral, las composiciones pueden formularse en una forma libre de pirógenos esterilizada. Las composiciones de la presente descripción también pueden administrarse in vivo a una célula
25 (por ejemplo, para producción de Bcl-2 en una célula o en un cultivo in vitro) simplemente agregando la composición al fluido en el cual están contenidas las células.

Dependiendo de las condiciones específicas que serán tratadas, dichos agentes pueden formularse y
30 administrarse sistémica o localmente. Las técnicas para formulación y administración pueden encontrarse en

72

Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa. (1990). Las rutas adecuadas pueden incluir administración oral, rectal, transdérmica, vaginal, transmucosal o intestinal; el suministro parenteral, 5 incluyendo inyecciones intramusculares, subcutáneas, intramedulares, así como inyecciones intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, intraocular, solo por nombrar algunas.

Para inyecciones, los agentes de la presente 10 descripción pueden formularse en soluciones acuosas, por ejemplo, en soluciones reguladoras fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer, o solución salina fisiológica. Para dicha administración transmucosal, se utilizan en la formulación los penetrantes 15 apropiados para la barrera que será permeada. Dichos penetrantes generalmente son conocidos en la materia.

El uso de vehículos farmacéuticamente aceptables para formular los compuestos aquí descritos para la práctica de la presente descripción en dosis adecuadas para 20 administración sistémica está dentro del alcance de la presente descripción. Con la elección apropiada de vehículo y practica de manufactura adecuada, las composiciones de la presente descripción, en particular, aquellas formuladas como soluciones, pueden administrarse parenteralmente, tal como 25 por inyección intravenosa. Los compuestos pueden formularse fácilmente usando vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la materia en dosis adecuadas para la administración oral. Dichos vehículos permiten que los compuestos de la presente descripción sean formulados como 30 tabletas, píldoras, cápsulas, líquidos, geles, jarabes,

73

lechadas, suspensiones y similares, para ingestión oral por un paciente que será tratado.

Los agentes que se pretenden administrar intracelularmente pueden administrarse usando técnica bien
5 conocidas por los expertos en la materia. Por ejemplo, dichos agentes pueden encapsularse en liposomas, luego administrarse como se describió antes. Los liposomas son bicapas de lípidos esféricos con interiores acuosos. Todas la moléculas presentes en una solución acuosa en el momento de formación
10 de liposomas se incorporan en el interior acuoso. El contenido liposomal se protege del microambiente externo y, debido a que los liposomas se fusionan con membranas celulares, se suministran eficientemente en el citoplasma celular. Adicionalmente, debido a su hidrofobicidad, se
15 pueden administrar intracelularmente de manera directa las moléculas orgánicas pequeñas.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para usarse en la presente descripción incluyen composiciones en donde los ingredientes activos están contenidos en una
20 cantidad efectiva para lograr su propósito pretendido. La determinación de las cantidades efectivas está dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente en vista de la descripción detallada provista en la presente. Además de los ingredientes activos, estas composiciones
25 farmacéuticas pueden contener vehículos farmacéuticamente adecuados incluyendo excipientes y auxiliares que facilitan el proceso de los compuestos activos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. Las preparaciones formuladas para la administración oral pueden tener forma de tabletas,
30 grajeas, cápsulas o soluciones. Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción se pueden

74

manufacturar en una forma que por sí misma es conocida, v.gr., por medio de procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, formación de grageas, levitación, emulsificación, encapsulación, atrapado o liofilización.

5 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semi-líquidas adecuadas para la penetración a través de la piel al sitio de donde se requiere el tratamiento, tales como linimentos, lociones, cremas, ungüentos o pastas y gotas adecuadas para
10 la administración al ojo, oído o nariz. Las gotas de acuerdo con la presente descripción pueden incluir soluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles y pueden prepararse disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa adecuada de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier
15 ingrediente en una solución acuosa adecuada de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro conservador adecuado y en algunas modalidades, incluyendo un agente de superficie activa. La solución resultante puede aclararse y esterilizarse por filtración y transferirse al contenedor por
20 una técnica aséptica. Los ejemplos de agentes bactericidas de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para inclusión en las gotas son nitrato o acetato fenilmercúrico (0.002%), cloruro de benzalconio (0.01%) y acetato de clorohexidina (0.01%). Los solventes adecuados para la preparación de una
25 solución oleosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.

Las lociones de acuerdo con la presente descripción incluyen aquellas adecuadas para la aplicación a la piel o los ojos. Una loción para los ojos puede incluir
30 una solución acuosa estéril conteniendo opcionalmente un bactericida y se puede preparar por métodos similares a

75

aquellos para la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para aplicación a la piel también pueden incluir un agente para reforzar el secado y enfriamiento de la piel, tal como un alcohol o acetona y/o un humectante tal como glicerol o un aceite tal como aceite de ricino o aceite de araquis.

Las cremas, ungüentos o pastas de acuerdo con la presente descripción son formulaciones semi-sólidas del ingrediente activo para aplicación externa. Pueden estar hechos de ingrediente activo en forma finamente dividida o en polvo, solos o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso, con la ayuda de maquinaria adecuad, con una base grasa o no grasa. La base puede incluir hidrocarburos tales como parafina dura, suave o líquida, glicerol, cera de abeja, un jabón metálico; un mucilago; un aceite de origen natural tal como aceite de almendra, maíz, araquis, ricino o de oliva; grasa de lana o sus derivados, o un ácido graso tal como ácido esteárico u oleico junto con un alcohol tal como propilenglicol o macrogeles. La formulación puede incorporar cualquier agente activo de superficie adecuada tal como activo de superficie aniónica, catiónica o no iónica tal como esteres de sorbitan o derivados de polioxietileno de los mismos. También pueden incluirse agentes de suspensión tales como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos tales como sílices silicáceas u otros ingredientes tales como lanolina.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de los compuestos activos pueden prepararse como suspensiones de inyección oleosas apropiadas. Los solventes o

76

vehículos lipofílicos adecuados tales como aceite de
ajonjolí, o ésteres de ácido graso sintético, tal como oleato
de etilo o triglicéridos, o liposomas. Las suspensiones de
inyección acuosas pueden contener sustancias que incrementan
5 la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetil
celulosa de sodio, sorbitol, o dextrano. Opcionalmente, la
suspensión también puede contener estabilizadores adecuados o
agentes que incrementan la solubilidad de los compuestos para
permitir la preparación de soluciones altamente concentradas.

10 Las preparaciones farmacéuticas para uso oral
pueden obtenerse combinando los compuestos activos con
excipiente sólido, opcionalmente moliendo una mezcla
resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de
agregar auxiliares adecuados, si se desea para obtener
15 tabletas y núcleos de grageas. Los excipientes adecuados, en
particular, son rellenos tales como azúcares, incluyendo
lactosa, sacarosa, manitol, o sorbitol, preparaciones de
celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de
trigo, almidón de arroz, almidón de papa, gelatina, gorma de
20 tragacanto, metil celulosa, hidroxipropil metil celulosa,
carboximetil celulosa de sodio y/o polivinil pirrolidona
(PVP). Si se desea, los agentes desintegrantes pueden
agregarse, tal como polivinil pirrolidona entrelazada, agar,
o ácido algínico o una sal del mismo tal como alginato de
25 sodio.

Los núcleos de grageas se provén con revestimiento
adecuado. Con este fin, se pueden usar soluciones de azúcar
concentradas, que o opcionalmente pueden contener goma
arábica, talco, polivinil pirrolidona, gel de carbopol,
30 polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y
solventes orgánicos adecuados o mezclas de solventes. Los

77

colorantes o pigmentos pueden agregarse a las tabletas o revestimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

5 Las preparaciones farmacéuticas que pueden usarse oralmente incluyen cápsulas de empuje hechas de gelatina, sí como cápsulas selladas, suaves, hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de empuje pueden contener los ingredientes activos mezclados con
10 relleno tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas suaves, los compuestos activos pueden disolverse o suspenderse en líquidos adecuados tales como aceites oleosos, parafinas
15 líquidas, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden agregar estabilizantes.

La composición puede incluir un sistema regulador, si se desea. Los sistemas de regulador se eligen para mantener o regular el pH de las composiciones dentro de un
20 rango deseado. El término "sistema regulador" o "regulador" como se usa en la presente se refiere a un agente o agentes de soluto que, cuando están en una solución acuosa, estabilizan dicha solución contra un cambio principal el pH (o concentración o actividad de iones hidrógeno) cuando se
25 agregan ácidos o bases al mismo. El agente o agentes de soluto que son responsables de una resistencia o cambio en pH de un valor de pH regulado de partida en el rango indicado antes son bien conocidos. Mientras hay reguladores adecuados incontables, el monohidrato de fosfato de potasio puede ser
30 un regulador adecuado.

78

El valor de pH final de la composición farmacéutica puede variar dentro del rango fisiológicamente compatible. El valor de pH final no deberá irritar la piel humana y también puede seleccionarse de manera que el transporte transdérmico del compuesto activo, v.gr., CoQ10 puede facilitarse. Sin violar esta restricción, el pH puede seleccionarse para mejorar la estabilidad del compuesto de CoQ10 y ajustar la consistencia según se requiera. En una modalidad, el valor de pH puede ser de aproximadamente 3 a alrededor de 7.4, en las modalidades de 3.2 a alrededor de 65., en otras modalidades de aproximadamente 3.5 a alrededor de 6.

En algunas modalidades, el componente restante de un vehículo de suministro tópico puede ser agua, en modalidades purificadas, v.gr., agua desionizada. Dichas composiciones de vehículo de suministro pueden contentar agua en una cantidad de aproximadamente 50 a alrededor de 95 por ciento, basado en el peso total de la composición. La cantidad específica del agua presente no es crítica, sin embargo, siendo ajustable para obtener la viscosidad deseada (usualmente de aproximadamente 50 cps a alrededor de 10,000 cps) y/o concentración de otros componentes. El vehículo de suministro tópico puede tener una viscosidad de por lo menos aproximadamente 40 centipoises.

Otros mejoradores de penetración de piel transdérmicos conocidos pueden usarse para facilitar el suministro de CoQ10. Son ilustrativos los sulfóxidos tales como sulfóxido de dimetilo (DMSIO) y similares; amidas cíclicas tales como 1-dodecilazacicloheptano-2-ona (AZONE®, una marca comercial registrada de Nelson Research, Inc.) y similares; las amidas tales como N,N-dimetil acetamida (DMA), N,N-dietyl toluamida, N,N-dimetil formamida, N,N-dimetil

29

octamida, N,N-dimetil decamida y similares; derivados de pirrolidona tales como N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona, ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico, N-(2-hidroxietil)-2-pirrolidona o esteres de ácidos grasos de los mismos, 1-lauril-4-metoxycarbonil-2-pirrolidona, alquilpirrolidonas de N-cebo y similares; polioles tales como propilenglicol, etilenglicol, polietilenglicol, dipropilenglicol, glicerol, hexanotriol, y similares; ácidos grasos lineales y ramificados tales como ácido oleico, linoleico, laurico, valerico, heptanoico, caproico, mirístico, isovalerico, neopentanoico, trimeil hexanoico, isoesteárico y similares; alcoholes tales como etanol, propanol, butanol, octanol, oleílico, estearílico, linoleílico y similares; agentes tensioactivos aniónicos tales como laurato de sodio, lauril sulfato de sodio y similares; agentes tensioactivos catiónicos tales como cloruro de benzalconio, cloruro de dodeciltrimetilamonio, bromuro de cetiltrimetilamonio y similares; agentes tensioactivo son iónicos tales como éteres de polioxietileno propoxilados, v.gr., poloxamero 231, Poloxamero 182, Poloxamero 184 y similares, los ácidos grasos etoxilados, v.gr., Tween 20, Myrj 45 y similares, los derivados de sorbitán, v.gr., Tween 40, Tween 60, Tween 80, Span 60 y similares, los alcoholes etoxilados, v.gr., éter laurílico de polioxietileno (4) (Brij 30), éter oleílico de polioxietileno (2) y similares, lecitina y derivados de lecitina y similares; los terpenos tales como D-limoneno, α -pineno, β -careno, α -terpineol, carvol, carvona, mentona, óxido de limoneno, óxido de α -pineno, aceite de eucalipto y similares.

También son adecuados los mejoradores de penetración a la piel como ácidos orgánicos y esteres tales

como ácido salicílico, salicilato de metilo, ácido cítrico, ácido succínico y similares.

Cantidades Efectivas

Las composiciones descritas antes pueden administrarse a un sujeto en una cantidad efectiva. Una cantidad efectiva es una cantidad que puede producir un resultado deseable en un animal o célula tratado. Como es bien conocido en la técnica medica y veterinaria, la dosis para cualquier animal depende de muchos factores, incluyendo el tamaño del animal en particular, el área de superficie del cuerpo, edad, la composición particular que será administrada, tiempo y ruta de administración, salud general y otros fármacos que son administrados concurrentemente. Se espera que la dosis apropiada para administración tópica de las composiciones de la presente descripción pueda ser de aproximadamente 0.1 a alrededor de 2.5 mg CoQ10/kg de peso corporal (v.gr., de aproximadamente 10 a alrededor de 500 mg para sujetos que varían de aproximadamente 49.895 a alrededor de 136.077 kg. Una cantidad efectiva para usarse con una célula en cultivo también variará, pero puede determinarse fácilmente de manera empírica (por ejemplo, agregando concentraciones variables a la célula y seleccionando la concentración que produce mejor el resultado deseado). Se espera que una concentración apropiada pueda ser de aproximadamente 1 a alrededor de 250 μ M.

EJEMPLOS

Los materiales utilizados para los experimentos para generar los datos que acompañan la presente descripción incluyeron lo siguiente: Skmel-28 (HTB-72), PC-3 (CRL-1435) y SkBr3 (HBT-30) se compraron a ATCC. Las líneas celulares se

desarrollaron en medio DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12, comercialmente disponible de Invitrogen Corporation) y suplementado con suero de becerro de bovino al 5%. Los anticuerpos Bcl-2 (Cat #:2872), Bax (Cat#:2774), Bid (Cat#:2002), p53 (Cat#:9282), Bcl-x1 (Cat#:7074) e IgG Anti-ratón (Cat#:7076) se compararon a CellSignaling Technology (Boston, MA). Los reactivos y químicos se compraron a Sigma Aldrich (St Louis, MO). Los geles de análisis Western Blot y soluciones reguladoras se
10 compraron a Bio-Rad (Hercules, CA).

Ejemplo 1

Protocolo de expresión de proteínas, (generó los datos en las Figuras: 3, 4, 5, 6, 7, 10a-10d, 13, 14, 16, 18, 19a y 25).

15 Se desarrollaron células Skmel-28, PC-3 y SkBr3 para confluencia al 80% y se subcultivaron en placas petri. Después de 24 horas, las células adheridas a las palcas y el medio se extrajo. Se agregó medio de tratamiento a cada placa. Siguiendo el tiempo de incubación pretendido, el medio
20 se removió y las células se lavaron con solución salina regulada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés) frías. Las células se rasparon en PBS frío y se recuperaron en tubos de centrífuga. Las células se formaron en pallas y se lavaron con PBS frío (3 veces). El PBS se removió, después de
25 lo cual se agregó trató con sonido una solución reguladora de lisis para dispersar las estructuras de proteínas. Una solución reguladora de muestra se agrega a cada tubo y la solución se hirvió durante 5 minutos. Usando un equipo de análisis de proteínas de BCA (ácido bicincóninico), la
30 concentración de la proteína se cuantificó para cada muestra.

82

Estos valores determinaron los volúmenes de carga para cada muestra.

Las muestras se cargaron en gel de análisis Western Blot y gel Tris HCl de adhesión al 4% y corrido al 12%. El
5 papel de nitrocelulosa se bloqueó durante la noche con soluciones de leche al 5%. Los anticuerpos respectivos se agregaron a cada papel de nitrocelulosa conteniendo las muestras de proteína. Después de 24 horas, se removió el anticuerpo primario y se lavó el papel de extracción para
10 remover cualquier anticuerpo primario no unido. Dependiendo del tipo del anticuerpo primario, se agregó a los extractos de proteína un anticuerpo secundario anti-ratón o anti-conejo. Después de la incubación, se removieron los anticuerpos y se lavaron los papeles de nitrocelulosa. Se
15 agregó un Pico Químio-luminiscente y el papel de nitrocelulosa se expuso a película de revelado por Rayos X bajo condiciones de cuarto oscuro. La película se reveló para registrar la expresión de proteínas.

Análisis gráfico para el Análisis de Western Blot

20 (Generaron los datos encontrados en las Figuras 12, 15, 17, 19a, 20, 21, 22, 23, 24, 26).

El procedimiento para expresión de proteínas se usó para obtener una imagen fotográfica de la expresión de
25 proteínas. Estas imágenes se fotografiaron en archivos de imágenes para análisis en computadora. Usando el software ImageJ desarrollado por U.S. National Institutes of Health (NIH), se cuantificaron los niveles de expresión de proteínas. La expresión se calculó con base en el nivel de
30 expresión de actina, que fue el control de carga para las

muestras. Los valores numéricos se analizaron estadísticamente para significado estadístico.

5 Muestras histológicas

Se desarrollaron células Skmel-28 en medio DMEM/F12 suplementado con suero al 5% para confluencia del 80%. Las células se tripsinizaron y formaron en pellas usando una centrífuga. Las pellas se resuspendieron en PBS frío. Los
10 sujetos para este estudio fueron ratones desnudos atimicos. Cada sujeto recibió dos inyecciones de la suspensión de células en la región dorsal del ratón. Después de la evaluación visual del establecimiento de un tumor, podría iniciar el tratamiento con una aplicación tópica. Después de
15 30 días de tratamiento, se extirparon los tumores del ratón y se colocaron en formalina. Cada muestra de tumor se embebió en parafina y se rebanó usando un micrótopo. Las rebanadas se tiñeron con tinción H & E o S-100. Estas muestras luego se analizaron por un patólogo para evaluar la integridad
20 vascular del tumor.

Las Figuras proveen detalles que se refieren a la síntesis de CoQ10 y las interacciones de proteínas endógenas en un estado cancerígeno, incluyendo su expresión en estados de cáncer. Las Figuras también describen los datos obtenidos
25 de los experimentos anteriores y demuestran los efectos de administración de un compuesto tal como CoQ10, a concentraciones variables y durante diferentes tiempos, en diferentes tipos de células cancerígenas. En resumen, las Figuras incluyen lo siguiente:

30 La Figura 1 es una descripción de la síntesis metabólica de CoQ10;

La Figura 2 es un resumen de las interacciones de Bax, P53 y Bcl-2 en la inducción de apoptosis;

La Figura 3 muestra la expresión de Bcl-2 en células de melanoma y 50 M CoQ10;

5 La Figura 4 muestra la expresión de Bcl-2 en células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ M CoQ10 durante 24 horas;

La Figura 5 muestra la expresión de Bcl-2 en células de melanoma tratadas en presencia y ausencia de CoQ10 usando el método de Resta (TA, por sus siglas en inglés). En los experimentos de TA las células de melanoma se trataron con CoQ10 durante 6, 12, y 24 horas. Después de incubación el medio se reemplazó con medio de cultivo normal durante 24 horas. La expresión de Bcl-2 se midió para evaluar la
10 responsabilidad de apoptosis;
15

La Figura 6 muestra expresión de Bax en células de melanoma después de 12 y 24 horas de incubación con CoQ10 (50 μ M y 100 μ M);

La Figura 7 muestra expresión de Bax en células de melanoma tratadas en presencia y ausencia de CoQ10 usando el método de Resta (TA) de 24 horas. En los experimentos de TA se trataron células de melanoma con CoQ10 durante 6, 12 y 24 horas. Después de la incubación se reemplazó el medio con medio de cultivo normal durante 24 horas. La expresión de Bax
20 se midió para evaluar la implicación en apoptosis;
25

La Figura 8 muestra la expresión de Bid en células de melanoma después de 12 horas de incubación con CoQ10;

La Figura 9 muestra el análisis de histopatología de tumores de melanoma humano inducido en ratones desnudos atímicos. El grupo de tratamiento recibió una aplicación
30

85

tópica de CoQ10 durante 30 días. El análisis de la patología tumoral indica una alteración en vasculatura de tumoral;

Las Figuras 10a-10d muestran la expresión de Bcl-2 en células de melanoma incubadas con CoQ10 y/o Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF) durante 24 horas;

La Figura 11 muestra la expresión de p53 en células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ M Coq10 durante 24 horas;

La Figura 12 es una gráfica que describe la expresión de p53 en células de melanoma incubadas con 50 μ M y 100 μ M CoQ10 durante 12 horas;

La Figura 13 muestra la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 6 horas;

La Figura 14 muestra la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 12 horas;

La figura 15 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-x1 en células de melanoma tratadas durante 12 horas con CoQ10;

La Figura 16 muestra la expresión de Caspase-3 en células de melanoma tratadas durante 12 horas con CoQ10;

La Figura 17 es una gráfica que cuantifica la expresión de Caspase-3 en células de melanoma tratadas durante 12 horas con CoQ10;

La Figura 18 muestra la expresión de Mcl-1 en células de melanoma tratadas con la Coenzima Q10 durante 3, 6, 12 y 24 horas;

La Figura 19a es una gráfica que cuantifica la expresión de Mcl-1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 12 horas; la Figura 19b es una gráfica que cuantifica la expresión de Mcl-1 en células de melanoma incubadas con CoQ10 durante 24 horas;

La Figura 20 es una gráfica que cuantifica la expresión de BAX en células PC-3 (cáncer de próstata) incubadas durante 4 horas con CoQ10;

La Figura 21 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-2 en células de PC-3 incubadas durante 4 horas con CoQ10;

La Figura 22 es una gráfica que muestra la comparación de punto de tiempo de la expresión de Bcl-2 en las células PC-3 tratadas con CoQ10 durante 4 y 24 horas;

La Figura 23 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bcl-2 en células SkBr-3 (cáncer de mama) incubadas durante 4 horas con CoQ10;

La Figura 24 es una gráfica que cuantifica la expresión de Bax en células SkBr-3 incubadas durante 8 horas con CoQ10;

La Figura 25 muestra la expresión de Bax en las células SkBr3 con CoQ10 durante 8 horas;

La Figura 26 es una gráfica que compara la expresión de Bcl-2 y Bax después de 24 horas de tratamiento con CoQ10.

Condiciones/Trastornos/Usos

Como se observó antes, las composiciones de la presente descripción pueden utilizarse para el tratamiento de cáncer. Dichas composiciones pueden incluir CoQ10 o sus metabolitos en un vehículo farmacéuticamente aceptable. Dicha composición puede efectuar el contacto celular de Coenzima Q10 endógena o sus metabolitos además de, pero no limitado a, ácido mevalónico y ácido oleico para formar un complejo intercelular. En las modalidades, dicha composición puede incluir de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de Coenzima Q10. Dichas composiciones pueden ser composiciones

87

tópicas que, a su vez, pueden ser geles, ungüentos, líquidos, cremas, bálsamos, lociones, rociadores, aerosoles, mousses espumas, combinaciones de los mismos y similares.

Como también se observó antes, las composiciones de la presente descripción pueden tener una forma líquida, capaz de introducirse en un sujeto por cualquier medio o ruta de administración dentro del ámbito de los expertos en la materia. Por ejemplo, se pueden administrar las composiciones por las rutas de administración incluyendo, pero no limitado a, los pulmones, intravenosa, oral, transdérmica, rectal, subcutánea, transmucosal, bucal, sublingual, intratumoral, sus combinaciones y similares.

En algunas modalidades, puede ser conveniente nebulizar o aerosolizar las composiciones para administración.

También se proveen métodos para tratar estados de enfermedad con las composiciones presentes. Dichos métodos pueden incluir tratar cáncer. Cuando se utilizan para tratar cáncer, las composiciones pueden estar en un vehículo farmacéuticamente aceptable que puede administrarse en una cantidad terapéuticamente efectiva a un área de oncogénesis como una monoterapia, en combinación con por lo menos otro agente quimioterapéutico para una indicación dada, en combinación con radioterapia, siguiendo la intervención quirúrgica para remover radicalmente un tumor, en combinación con otros tratamientos alternativos y/o complementarios aceptables para cáncer y similares.

En las modalidades, la presente descripción también provee un método reclamado para reactivar una proteína p53 mutada/inactivada administrando a un área de oncogénesis en un paciente una composición de la presente descripción.

88

La presente descripción también provee métodos para modular proteínas implicadas en la oncogénesis administrando a un área de oncogénesis en un paciente una composición de la presente descripción. Dichas proteínas pueden modularse por composiciones de la presente descripción incluyen, pero no están limitados a: proteína Pcl-2; proteína Bax, proteína Bid, proteína Bim; proteína Bad, proteína Bak; proteína MNcl-1; proteína Bcl-xl; proteína Bcl-xs; proteína Bcl-w; proteína Bik; proteína Bok; proteína BimL; proteína Al; proteína Hrk; proteína Bik; proteína BNip3; proteína Blk; proteína Noxa; proteína Puma; proteína VEGF; proteína FGF-1/FGF-2; proteína Hif- α ; proteína angiostatina; proteína TGF- β ; proteínas SMAD; cdk (quinasas dependientes de ciclina); el complejo PI3K/akt.

En otras modalidades, las composiciones de la presente descripción se pueden usar para regular y/o restaurar un estado de apoptosis saludable en células cancerígenas. La disfunción mitocondrial y desregulación de apoptosis están implicados en muchas enfermedades tales como cáncer y neurodegeneración. La disfunción de cadenas respiratorias (RC) pueden tener un papel en apoptosis, como se demostró usando mutaciones de ADN mitocondrial como modelos genéticos. Aunque algunas mutaciones eliminan todo RC, otros complejos específicos blanco, que dan como resultado la disminución o pérdida completa de flujo de electrones, los cuales conducen a respiración alterada y síntesis de trifosfato adenosina (ATP). A pesar estímulos apoptóticos. Las células que crecen de RC se protegen contra apoptosis inducida por estrés mitocondrial y de retículo endoplásmico (ER). Las células con RC, pero incapaces de generar flujo electrónico, se protegen contra apoptosis

89

mitocondrial, aunque pueden tener sensibilidad incrementada a estrés por ER. Finalmente, las células con una reducción parcial en flujo electrónico tienen apoptosis incrementada bajo ambas condiciones. RC modula la apoptosis en una forma dependiente de contexto de producción de ATP y que las respuestas apoptóticas son el resultado del juego interno entre el estado funcional mitocondrial y aspectos ambientales.

La Ejecución de apoptosis y comunicación entre factores oncogénicos también pueden mediarse por factores liberados tales como citocromo C, Endo G o AIF a través de poroso de membrana mitocondrial que se abren por despolarización de membrana.

Las células cancerígenas también general lactato excesivo en presencia de oxígeno (glicolisis aeróbica). Ahora parece que este fenómeno es el producto de dos factores: un regreso al metabolismo más glicólico de los embriones y alteraciones en fosforilación oxidativa (OXPHOS) para incrementar la producción de especies de oxígeno reactivo mitocondrial (ROS). Las alteraciones en la ruta de transducción de señal Ras-PI3K-Akt puede dar como resultado la inducción de hexocinasa II y su unión a ATP mitocondrial de redireccionamiento de proteína mitocondrial para fosforilar glucosa y dirigir la glicolisis. Además, la inhibición parcial de OXPHOS por mutaciones de genes mitocondriales (línea germinal o somática) puede reducir el flujo de electrones a través de la cadena de transporte electrónico, incrementando la producción de ROS mitocondrial. Los proto-oncogenes nucleares de mutagénesis de ROS incrementados (inicio) y dirige la replicación nuclear (promoción), dando como resultado cáncer. Por lo tanto, la

90

hexocinasa II y ROS mitocondrial pueden ser blancos alternos útiles para terapia de cáncer.

El flujo metabólico relacionado con cáncer está comprometido en un estado oncogénico y cambia a un estado glicolítico. Una supervivencia de la célula de cáncer depende vitalmente del metabolismo de glucosa y bajos niveles de oxígeno. Es más desconcertante que la actividad mitocondrial sea atenuada más significativamente al punto de aletargamiento. La fosforilación oxidativa usualmente asociada con Complejo I-IV que acepta electrones del Ciclo de ácido Cítrico (TCA) esencialmente se apaga. Existe un incremento marcado en la cantidad de radicales libres y actividad de lactato deshidrogenasa. Por lo tanto, la célula de cáncer está en un estado del:

- 1) Oxígeno disminuido (hipoxia)
- 2) Incremento de formación de radicales libres
- 3) Apoptosis desregulada (muerte celular)
- 4) Dependencia de metabolismo de glucosa
- 5) Formación de vasos sanguíneos incrementada
- 6) Reconocimiento inmune alterado (inicia estado autoregulator)

En las modalidades, el efecto que CoQ10 puede tener sobre las células de cáncer puede depender, en parte, de varios estados de flujo metabólico y oxidativo exhibido por las células de cáncer. CoQ10 puede utilizarse para interrumpir y/o interferir con la conversión de una dependencia de células oncogénicas de glicolisis y utilidad incrementada de lactato. Dado que se refiere a un estado cancerígeno, esta interferencia con el flujo glicolítico y oxidativo de microambiente tumoral puede influenciar la

a1

apoptosis y angiogénesis en una manera que reduce el desarrollo de una célula de cáncer.

En las modalidades, la interacción de Coenzima Q10 con factores de flujo glicolítico y oxidativo pueden
5 incrementar la capacidad de Coenzima Q10 para ejercer su efecto apoptotico restaurativo en cáncer mientras establece blancos de fármacos viables para el descubrimiento y desarrollo de fármaco.

Mientras que la descripción anterior se ha enfocado
10 en la Coenzima Q10 y sus metabolitos, otros compuestos relacionados con CoQ10 que pueden administrarse en lugar de, o en combinación con, CoQ10 incluyen, pero no se limitan a, benzoquinonas, isoprenoides, farnesoles, acetato de farnesilo, pirofosfato de farnesilo, 1-fenilalanina, d-
15 fenilalanina, dl-fenilalanina, l-tirosina, d-tirosina, dl-tirosina, 4-hidroxi-fenilpiruvato, 4-hidroxi-fenilacetato, 4-hidroxi-cinamato, dipéptidos y tripeptidos de tirosina o fenilalanina, 3,4-dihidroximandelato, 3-metoxi-4-hidroxifenilglicol, 3-metoxi-4-hidroximandelato, ácido
20 vanílico, acetato de fenilo, piridoxina S-adenosil metionina, pantenol, ácido mevalónico, pirofosfato de isopentilo, butirato de fenilo, 4-hidroxi-benzoato, pirofosfato de decaprenilo, beta-hidroxibutirato, 3-hidroxi-3-metilglutarato, acetilcarnitina, acetoacetilcarnitina,
25 acetilglicina, acetoacetilglicina, carnitina, ácido acético, ácido piruvico, 3-hidroxi-3-metilglutarilcarnitina, todas las formas isoméricas de serina, alanina, cisteína, glicina, treonina, hidroxiprolina, lisina, isoleucina, y leucina, ácidos grasos con número de carbono uniforme de C4 a C18
30 (ácidos butírico, caproico, caprilico, caprico, laurico, mirístico, palmítico y esteárico) sales de carnitina y

92

glicina, v.gr., palmitoilcarnitina y palmitoilglicina y 4-hidroxi-benzoato polipreniltransferasa, cualesquiera sales de estos compuestos, así como sus combinaciones y similares.

Las figuras se ofrecen a manera de ilustración, no a manera de limitación. Mientras que se han provisto ejemplos
5 específicos, la descripción anterior es ilustrativa y no restrictiva. Cualquiera o más de los aspectos de las modalidades previamente descritas pueden combinarse de cualquier manera con uno más aspectos de cualesquiera otras
10 modalidades en la presente descripción. Además, muchas variaciones de la presente descripción serán evidentes para los expertos en la materia al revisar la especificación.

Otras Referencias

Todas las publicaciones y documentos de patentes
15 citados en esta solicitud se incorporan por referencia en la parte pertinente para todos los propósitos al mismo grado que si cada publicación individual o documento de patente fueran denotados individualmente. Por su cita de varias referencias en este documento, los solicitantes no admiten ninguna
20 referencia particular es "técnica anterior" a su descripción.

Se entiende que mientras que se ha descrito la presente descripción junto con la descripción detallada de la misma, la descripción anterior se pretende que ilustre y no limite el alcance de la presente descripción, que se definen
25 para el alcance de las reivindicaciones anexas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

93

REIVINDICACIONES

1.- Un método comprendiendo:

5 administrar a una célula una composición que comprende un liposoma que comprende un fosfolípido y un agente bioactivo que comprende la coenzima Q10 o sus metabolitos; y

 permite que la coenzima Q10 o sus metabolitos forme
10 un complejo con la coenzima Q10 endógena y lípidos de membrana,

 en donde la formación del complejo induce la célula para someterse a apoptosis.

 2.- El método de la reivindicación 1, en donde los
15 lípidos de membrana comprenden lípidos endógenos seleccionados del grupo que consiste de ácido oleico, ácido mevalónico y quinonas.

 3.- El método de la reivindicación 1, en donde la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente
20 aceptable y en donde la coenzima Q10 está presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60%(p/p) de la composición.

 4.- El método de la reivindicación 1, en donde la composición tiene una forma seleccionada del grupo que
25 consiste de geles, ungüentos, cremas, bálsamos, lociones, mousses, espumas, rociadores, aerosoles, líquidos, polvos nebulizados y supositorios.

 5.- El método de la reivindicación 1, en donde la formación del complejo induce modulación de una proteína
30 celular seleccionada del grupo que consiste de p53, Bcl-2, miembros de la subfamilia Bcl-2 y Bak.

94

6.- El método de la reivindicación 5, en donde la modulación de la proteína celular comprende reactivación de la proteína p53.

7.- El método de la reivindicación 5, en donde la modulación de la proteína celular comprende modular por lo menos un dominio de unión de BH3 de la familia Bcl-2.

8.- El método de la reivindicación 7, en donde por lo menos uno del dominio de unión de BH3 de la familia Bcl-2 se seleccionan con el grupo que consiste de Bid, Bim, Bik y sus combinaciones.

9.- El método de la reivindicación 1, en donde la célula es una célula oncogénica.

10.- Un método para tratar cáncer que comprende:
administrar a una célula oncogénica una composición que comprende un liposoma que comprende un fosfolípido y un agente bioactivo que comprende coenzima Q10 o sus metabolitos; y

permitir que la coenzima Q10 o sus metabolitos para formar un complejo con coenzima endógena Q10 y lípidos de membrana,

en donde la formación del complejo modula factores angiogénicos de la célula oncogénica.

11.- El método de la reivindicación 10, en donde los lípidos de membrana comprenden lípidos endógenos seleccionados del grupo que consiste de ácido oleico, ácido mevalónico y quinonas.

12.- El método de la reivindicación 10, en donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y en donde la coenzima Q10 está presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/pp) de la composición.

95

13.- El método de la reivindicación 10, en donde la composición tiene una forma seleccionada del grupo que consiste de geles, ungüentos, cremas, bálsamos, lociones, mousses, espumas, rociadores, aerosoles, líquidos, polvos
5 nebulizados y supositorios.

14.- El método de la reivindicación 10, en donde la formación del complejo modula factores angiogénicos seleccionados del grupo que consiste de VEGF, FGF, Hif-1 α y angiostatina.

10 15.- Un método para tratar cáncer que comprende:

administrar a una célula oncogénica una composición que comprende un liposoma que comprende un fosfolípido y un agente bioactivo que comprende la coenzima Q10 o sus metabolitos; y

15 permitir que la coenzima Q10 o sus metabolitos forman un complejo con coenzima Q10 endógeno y lípidos de membrana,

en donde la formación del complejo modula los factores del ciclo celular de la célula oncogénica.

20 16.- El método de la reivindicación 15, en donde los lípidos de membrana comprenden lípidos seleccionados del grupo que consiste de ácido oleico, ácido mevalónico y quinonas.

25 17.- El método de la reivindicación 15, en donde la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable y en donde la coenzima Q10 está presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/p) de la composición.

30 18.- El método de la reivindicación 15, en donde la composición tiene una forma seleccionada del grupo que consiste de geles, ungüentos, cremas, bálsamos, lociones,

mousses, espumas, rociadores aerosoles, líquidos, polvos nebulizados y supositorios.

19.- El método de la reivindicación 15, en donde la formación del complejo modula los factores del ciclo celular
5 seleccionados del grupo que consiste de proteínas SMAD, TGF- β , cinasas que dependen de ciclinas y PI3K/akt.

97

RESUMEN

La presente descripción se refiere a un método para
5 inducir apoptosis en una célula cancerígena por el suministro
de Coenzima Q10 exógena o sus metabolitos en un vehículo
farmacéuticamente aceptable para efectuar el contacto celular
de Coenzima Q10 endógena o sus metabolitos además de, pero no
limitado a, ácido mevalónico y ácido oleico para formar un
10 complejo intracelular. La presente descripción también provee
un método para modular la ruta p53 y familia de proteínas
Bcl-2 de tal manera que restaura el potencial apoptótico a
una célula cancerígena por el suministro de Coenzima Q10 en
un vehículo farmacéuticamente aceptable. La presente
15 descripción además provee un método para normalizar
específicamente la relación de miembros pro-apoptóticos y
anti-apoptóticos de la familia de genes Bcl-2 en una
proporción para reprogramar a una célula cancerígena para que
sufra de apoptosis.

98

1/16

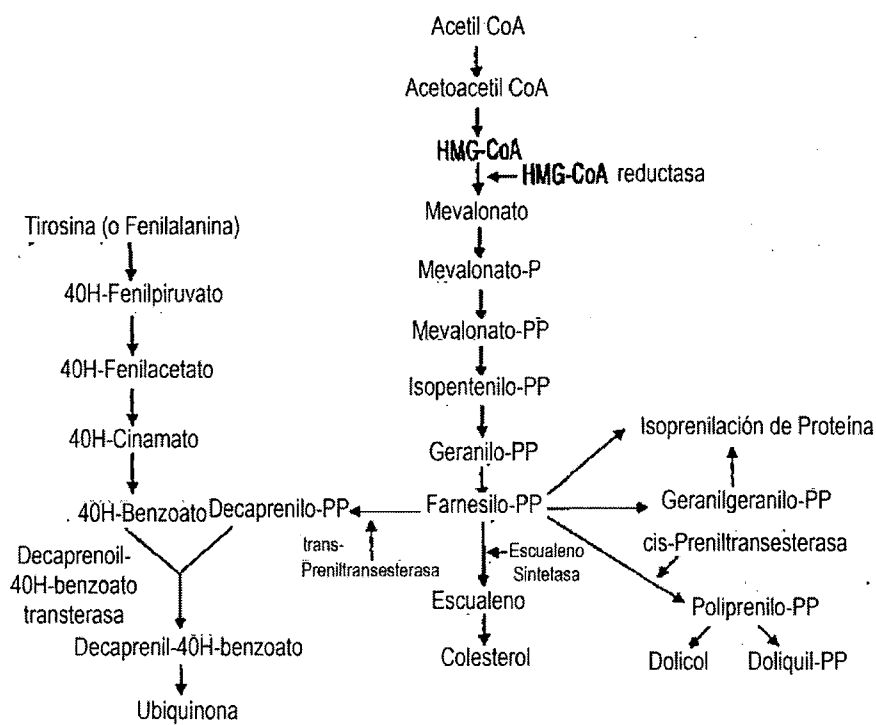


FIG. 1

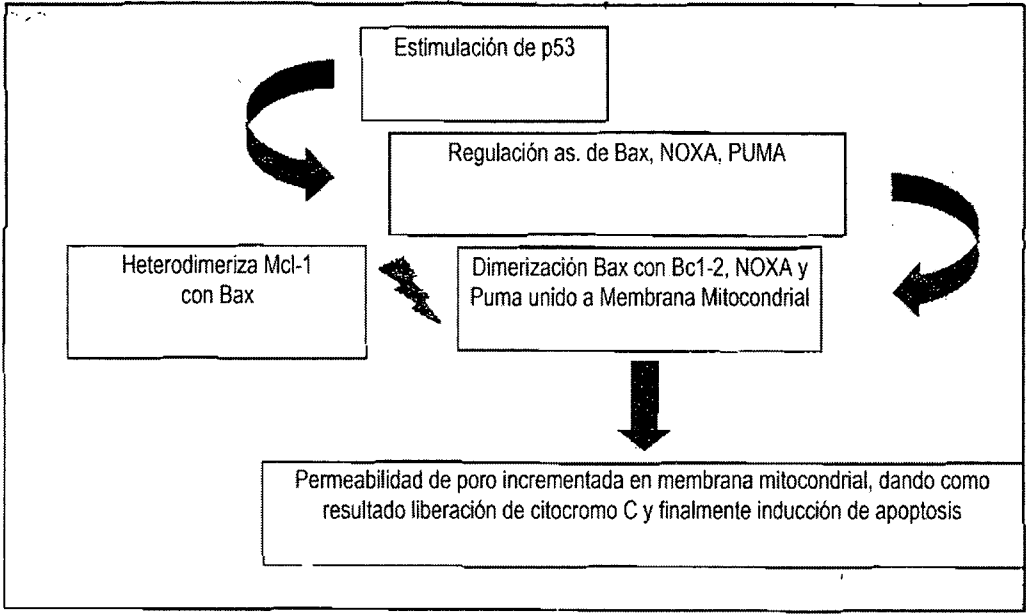


Figura 2

99

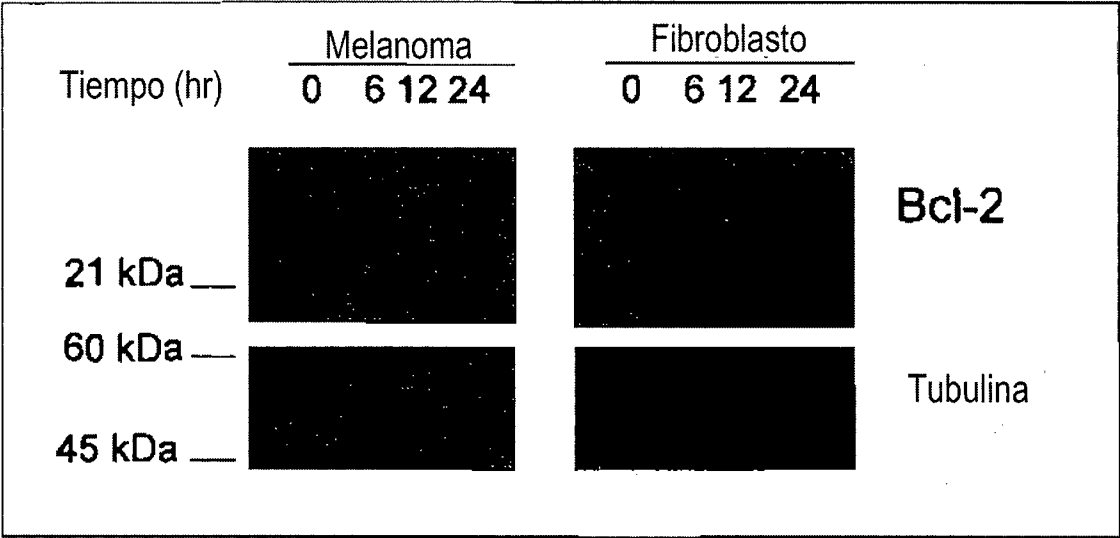


Figura 3

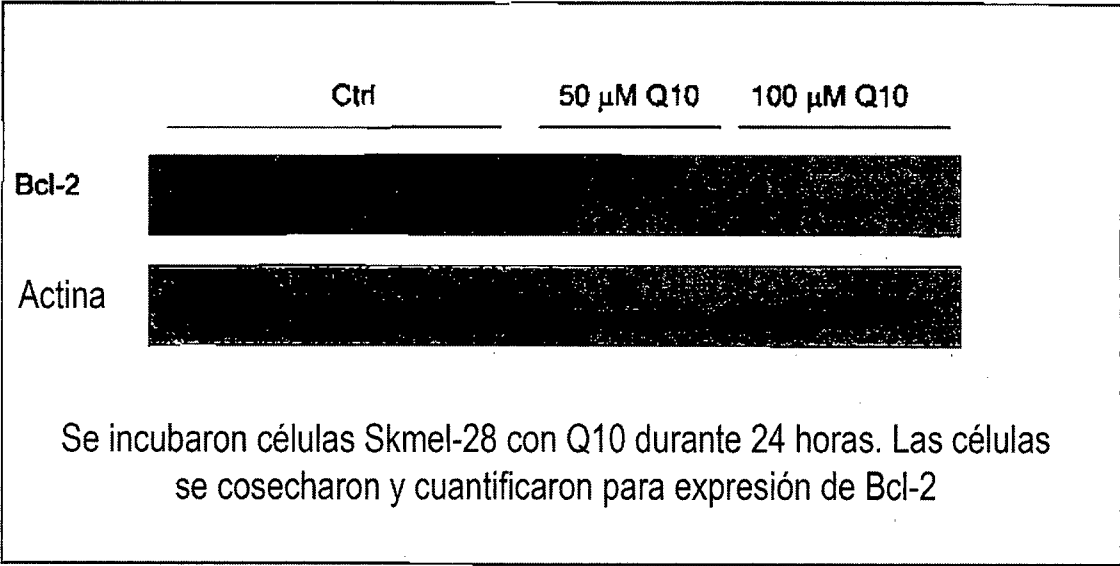


Figura 4

100

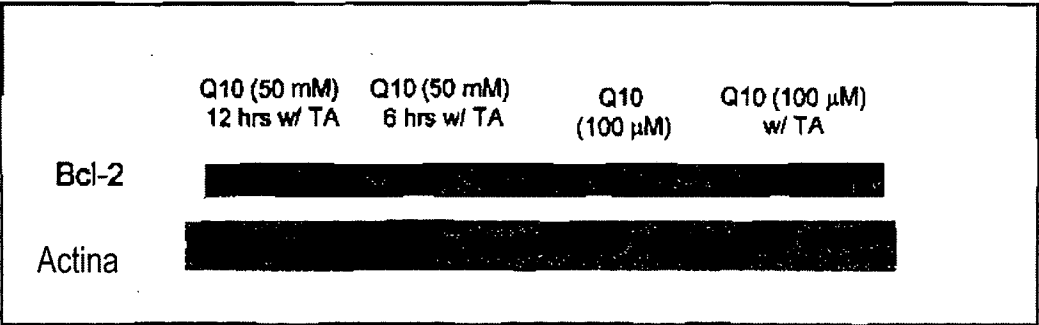
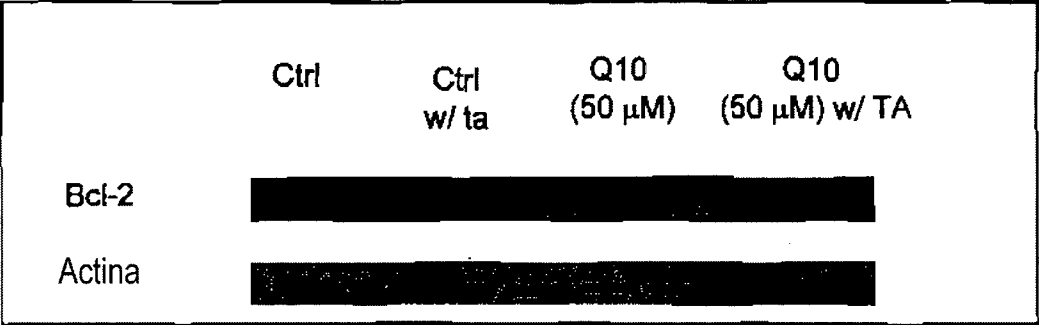


Figura 5

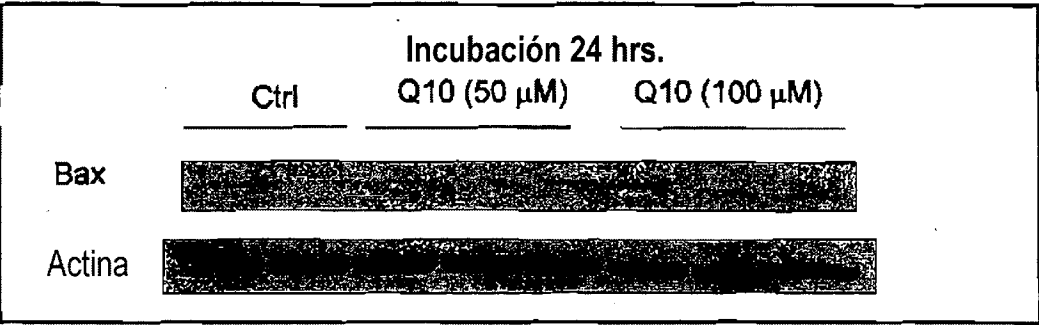
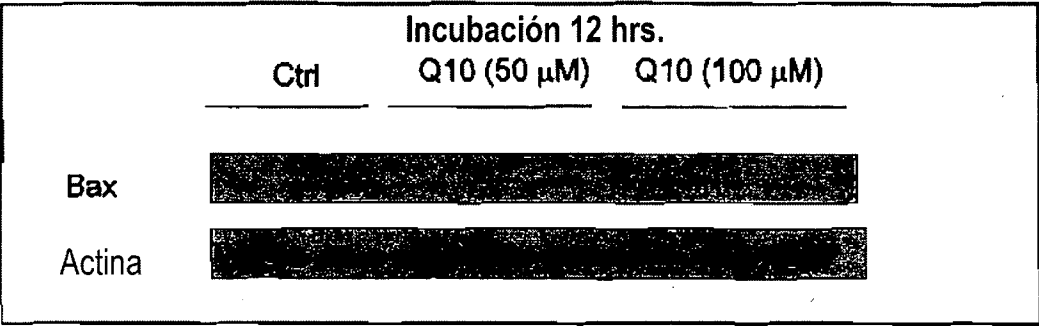


Figura 6

201

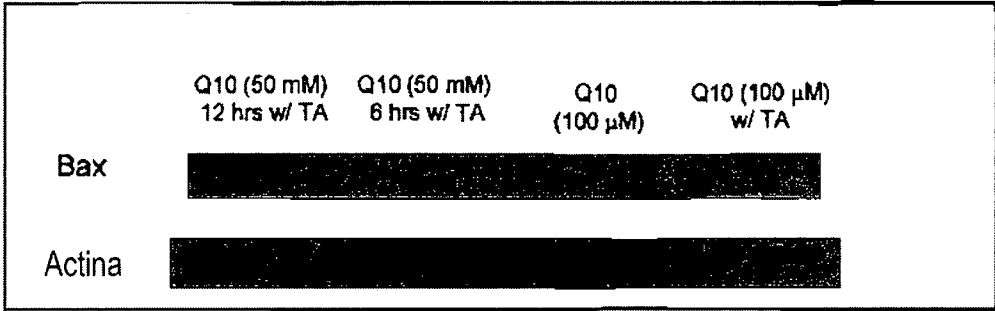
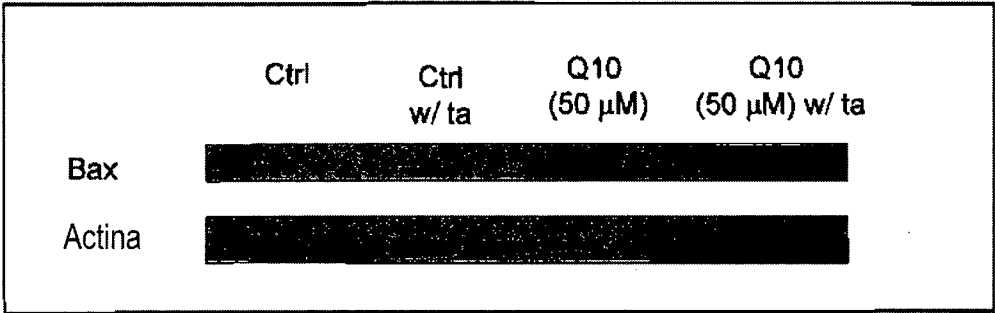


Figura 7

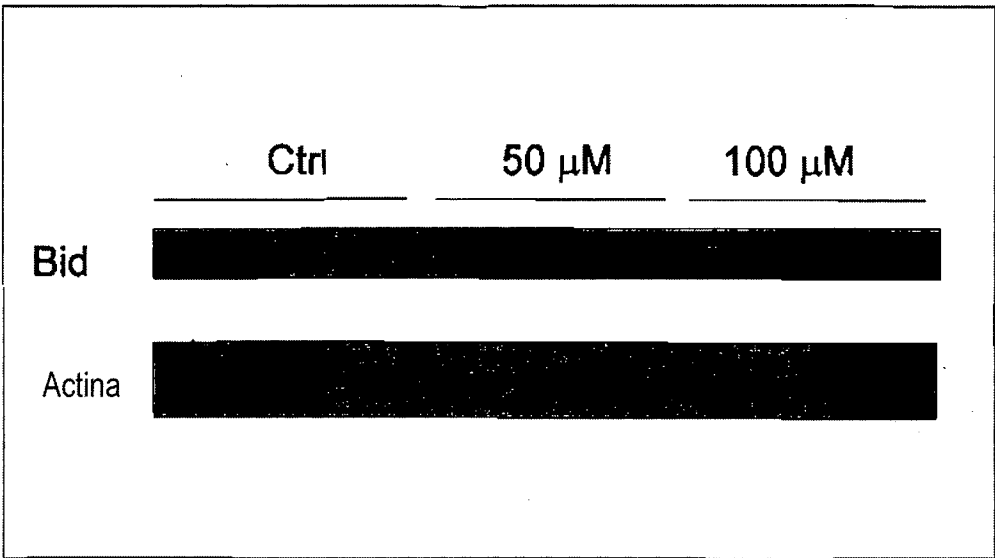
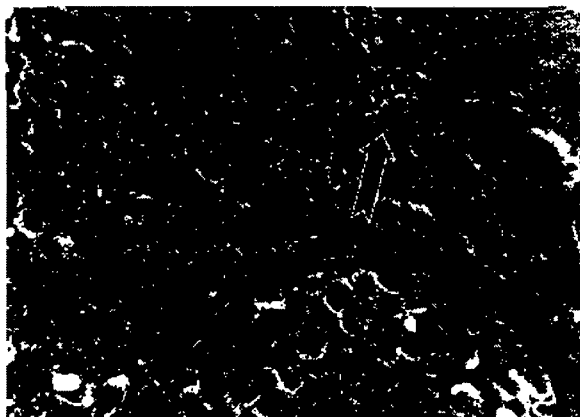


Figura 8

Reducción en Angiogénesis en Tumores de
Melanoma tratados con

Ctrl



Tratamiento

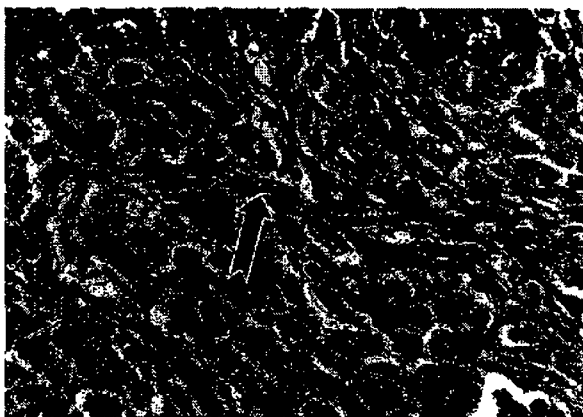


Figura 9

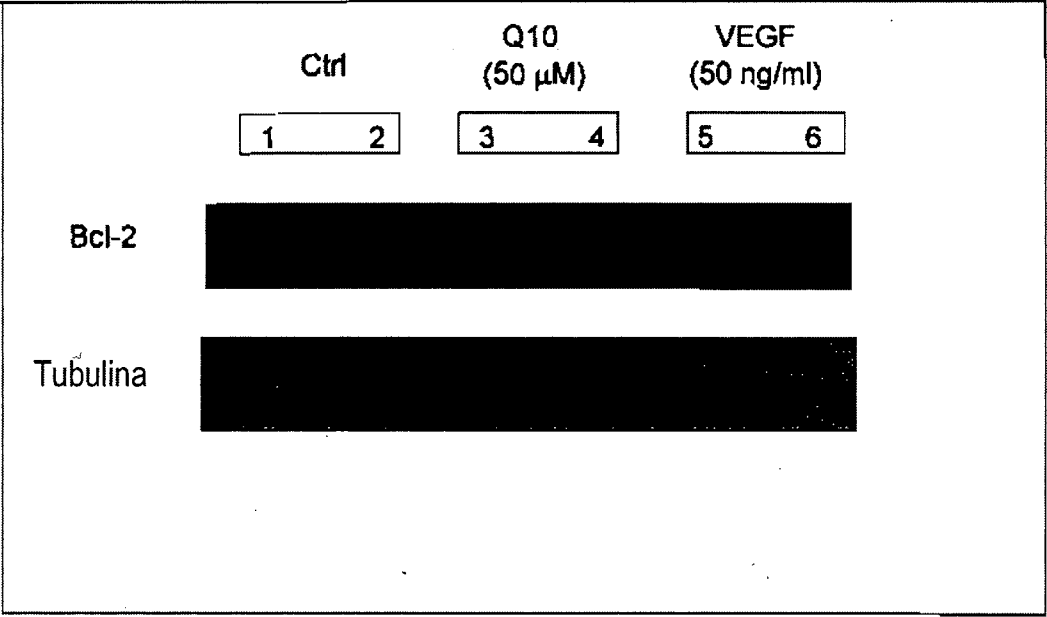


Figura 10a

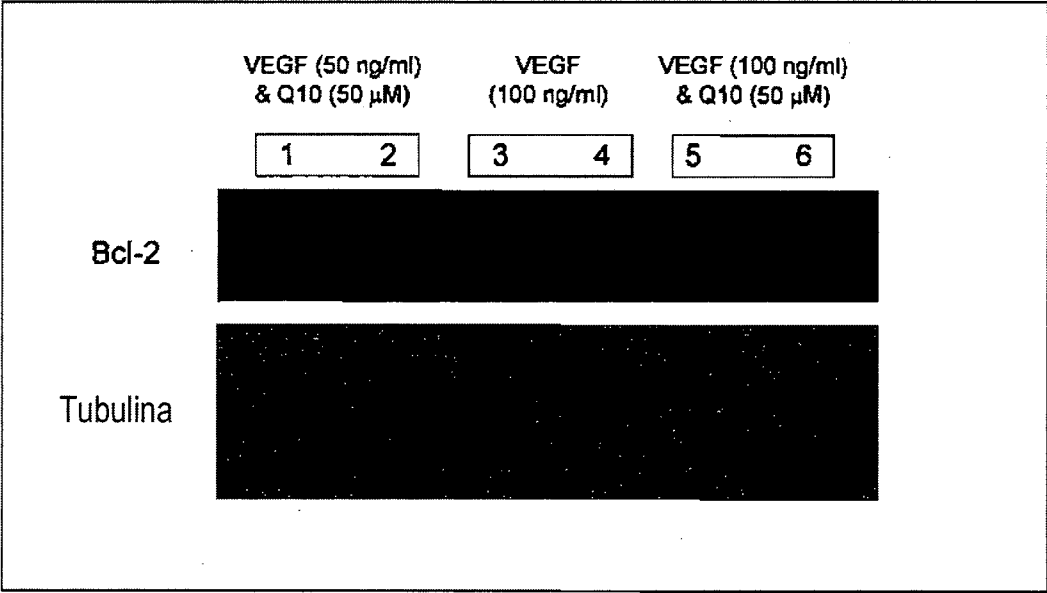


Figura 10b

7/16

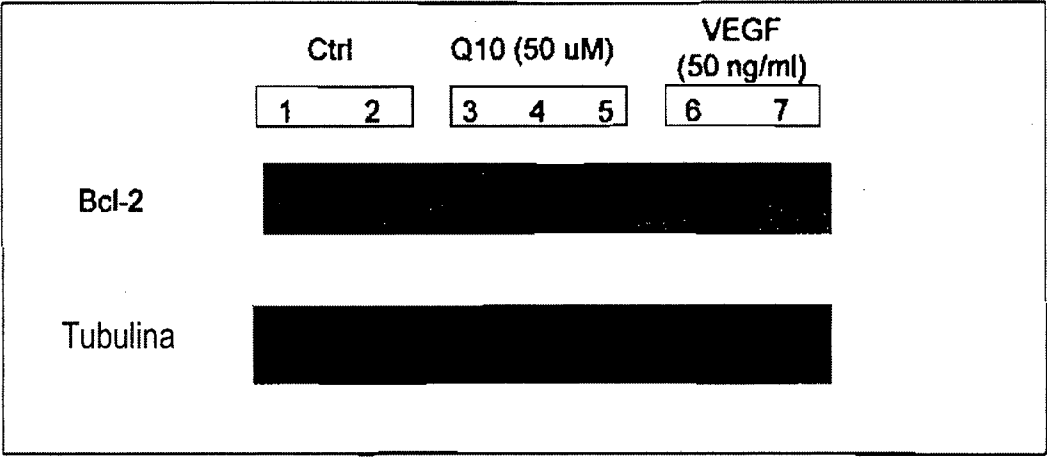


Figura 10c

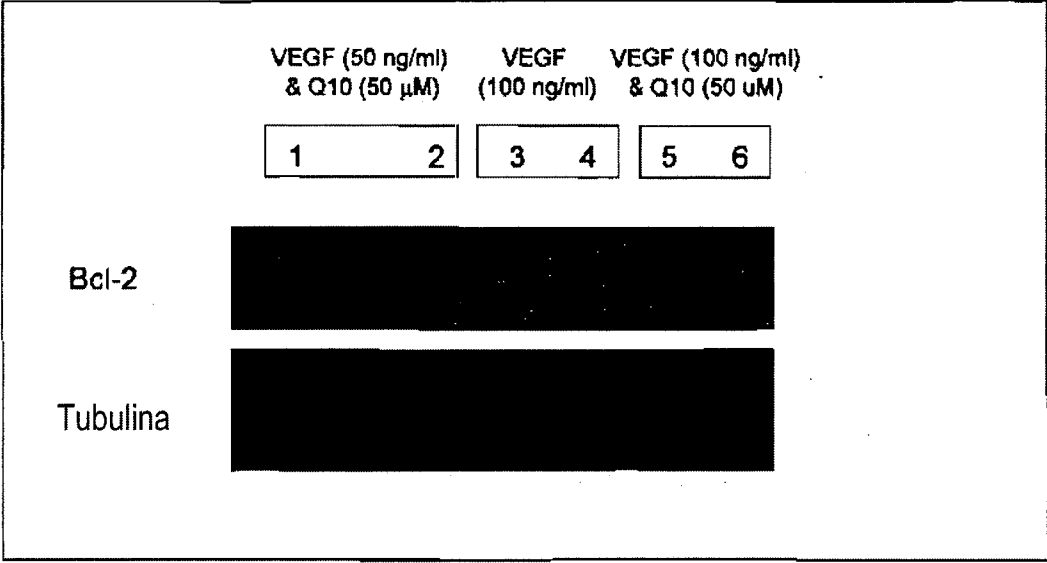


Figura 10c

105

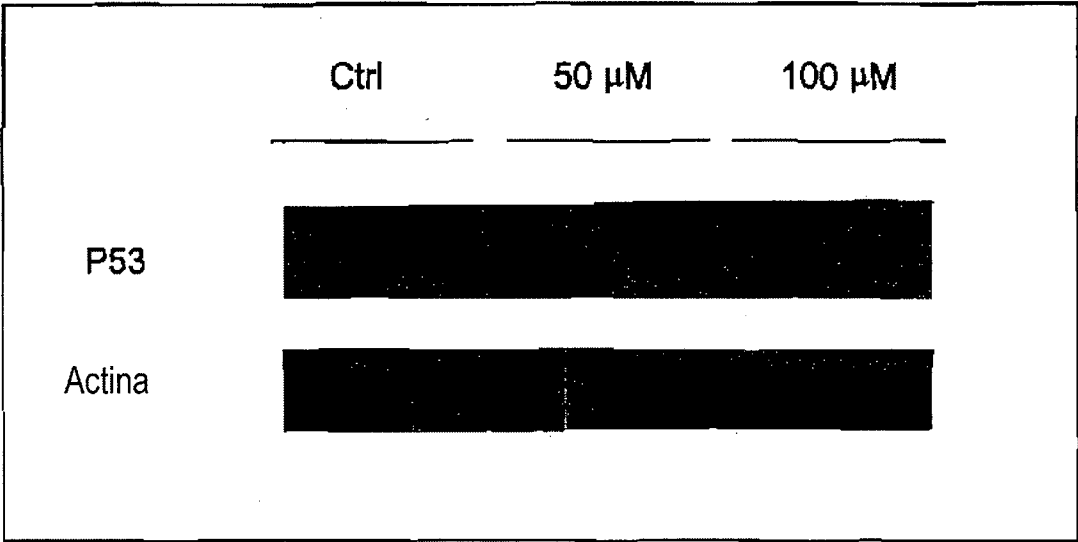


Figura 11

Expresión de P53 para células de Melanoma incubadas con Coenzima Q10 durante 12 horas

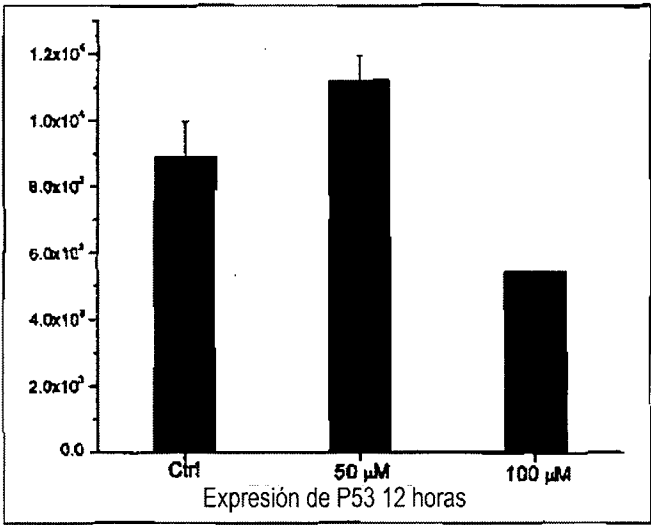


Figura 12

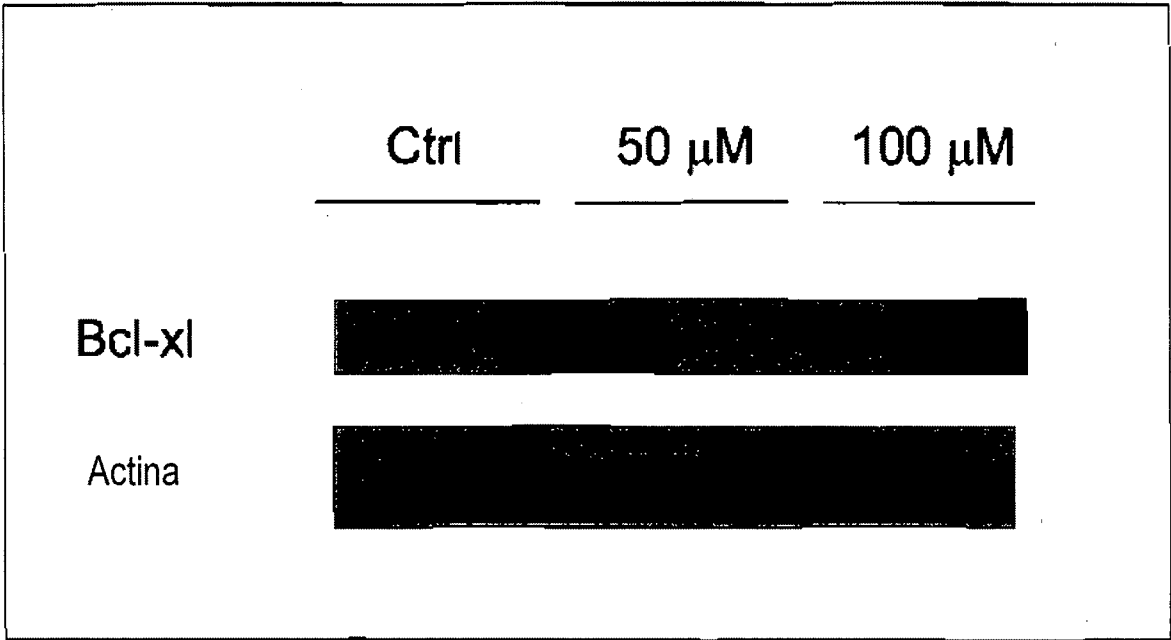


Figura 13

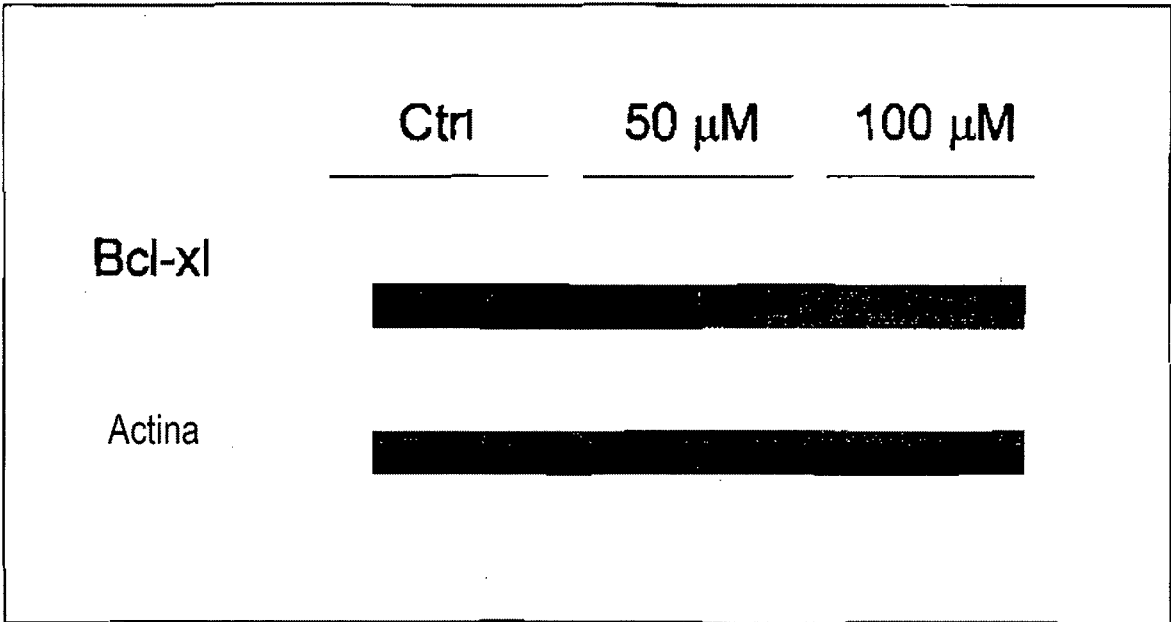


Figura 14

107

10/16

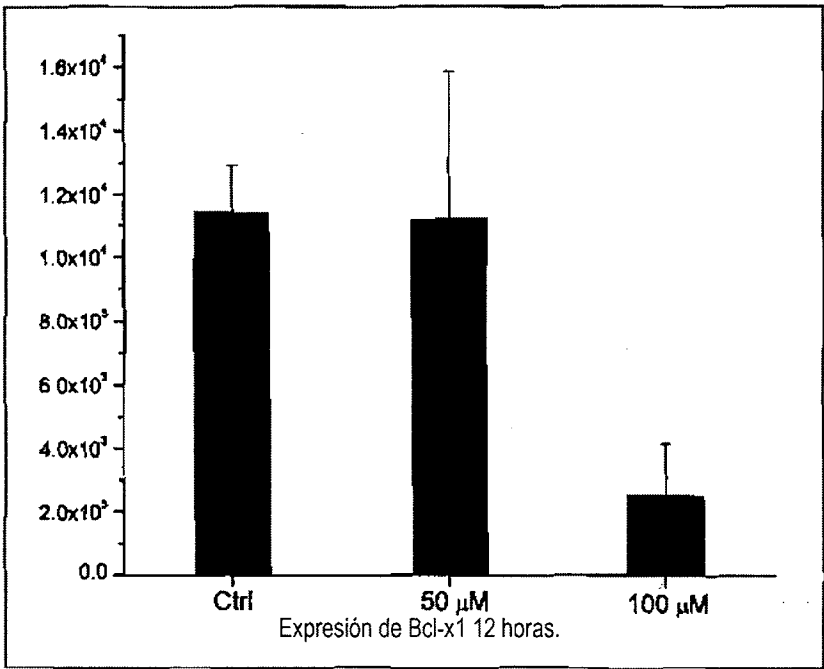


Figura 15

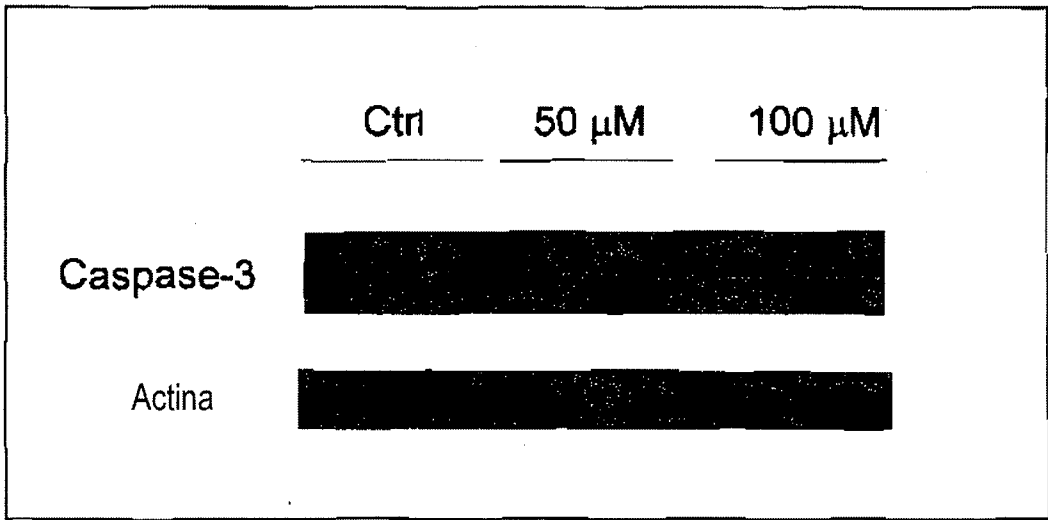


Figura 16

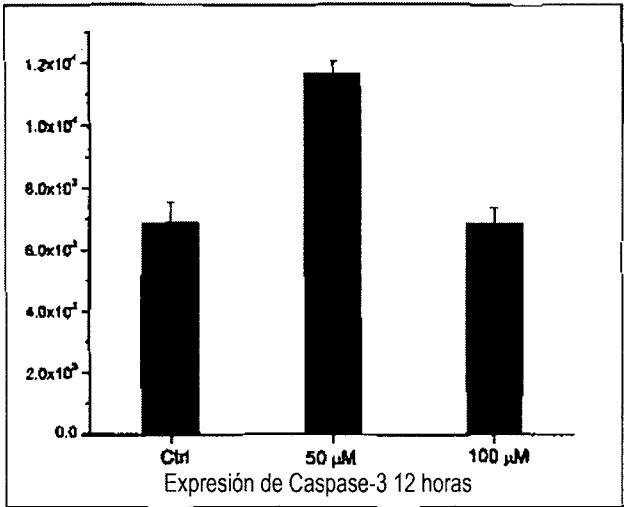


Figura 17

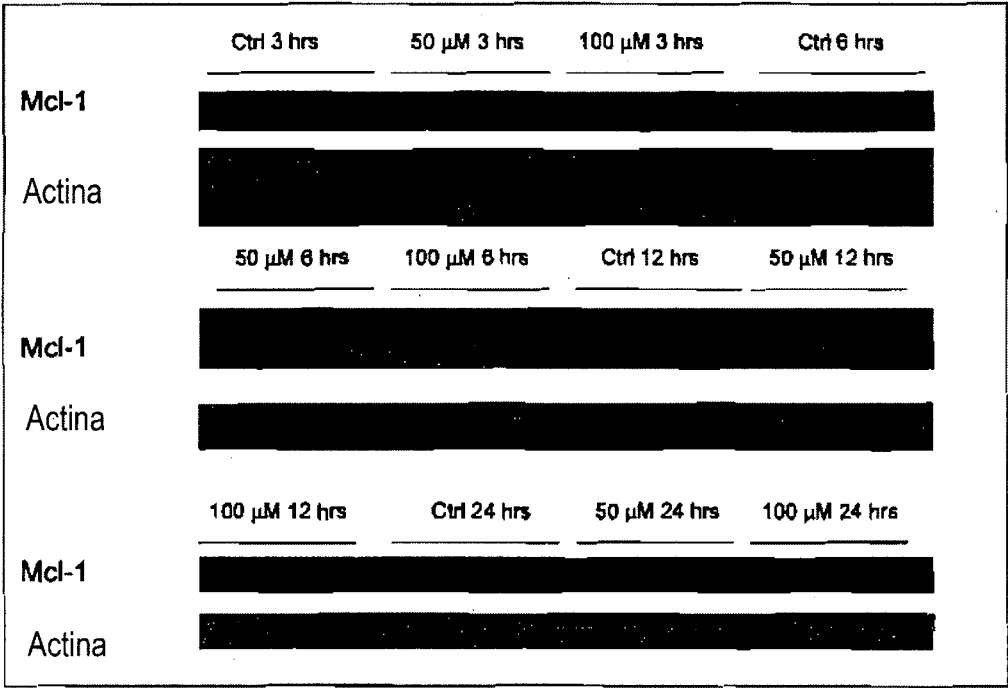


Figura 18

109

12/16

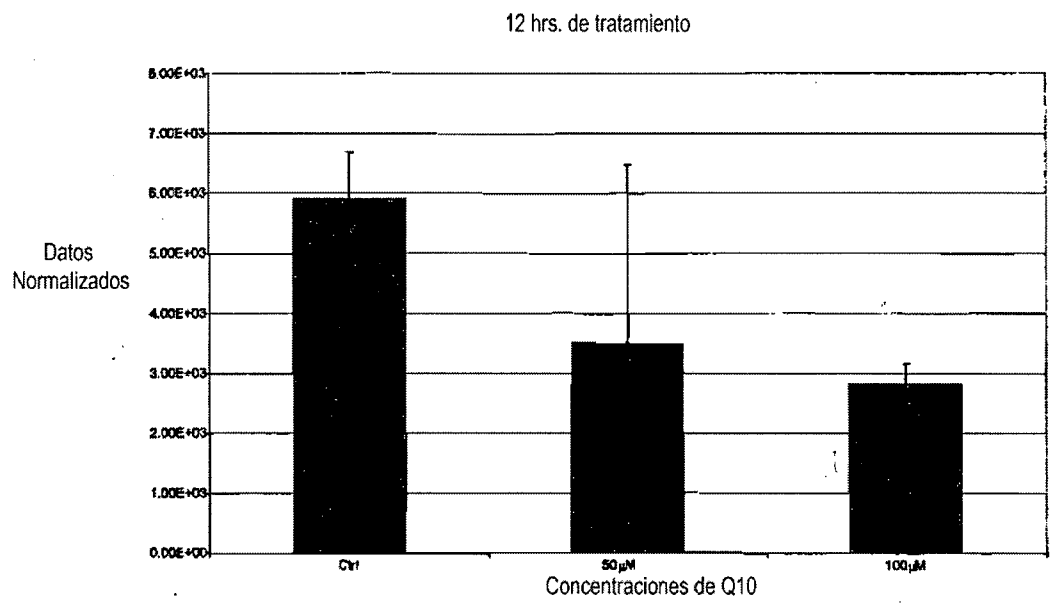


Figura 19a

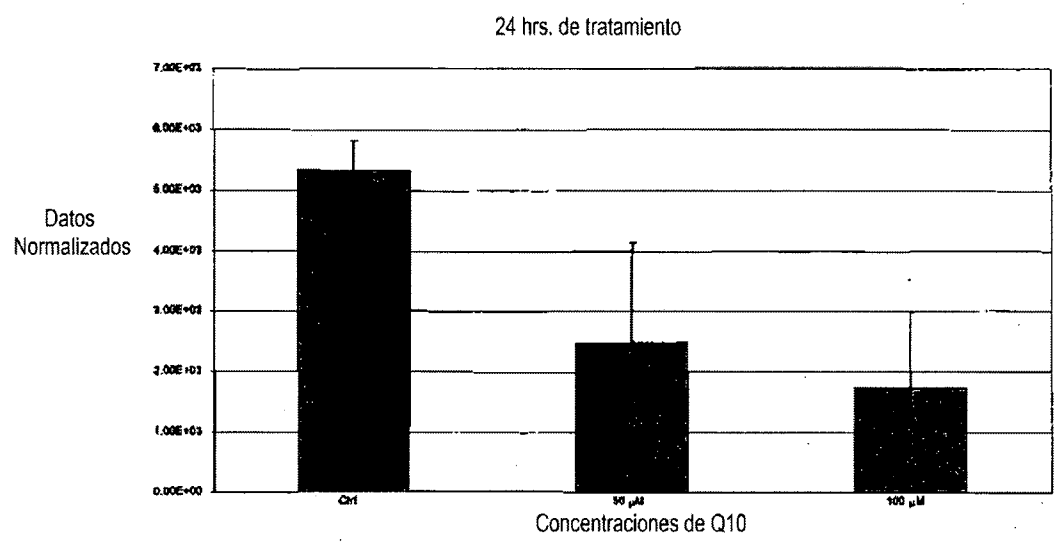


Figura 19b

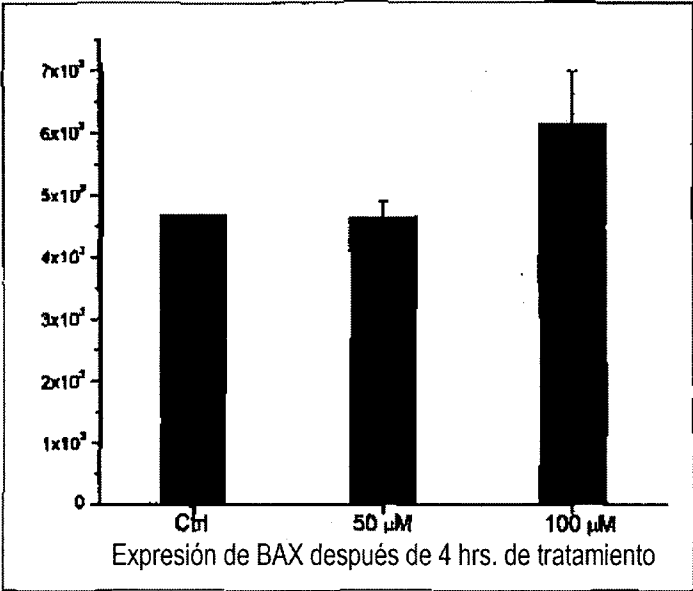


Figura 20

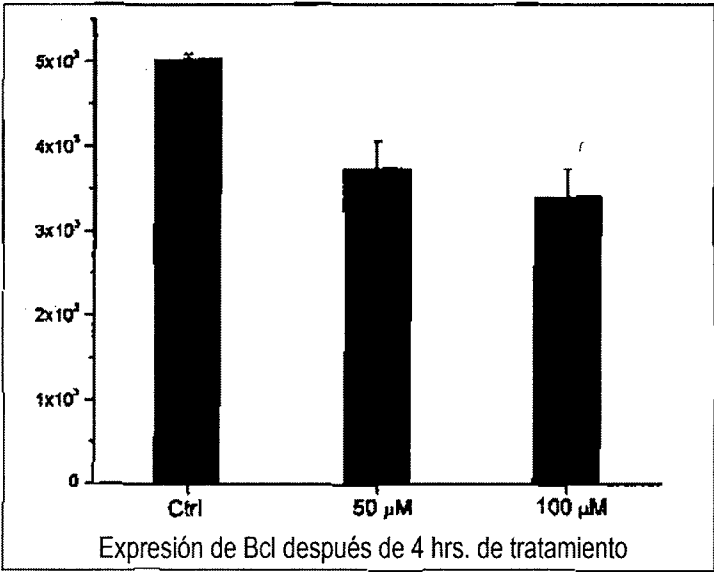


Figura 21

111

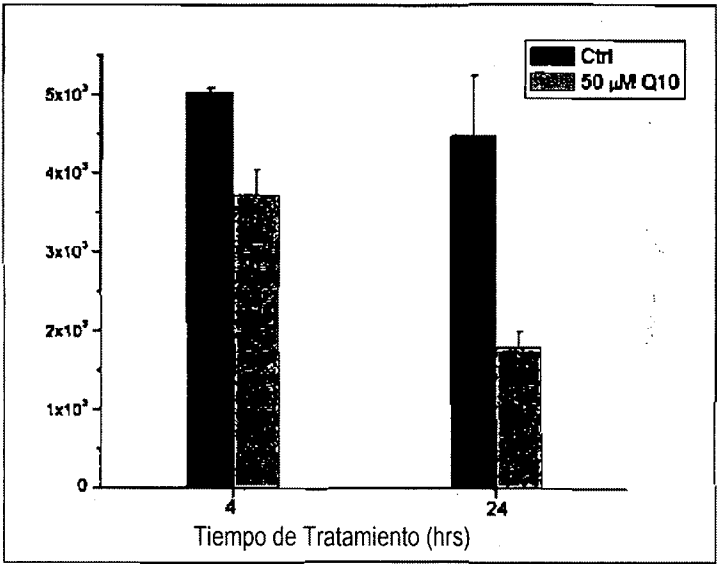


Figura 22

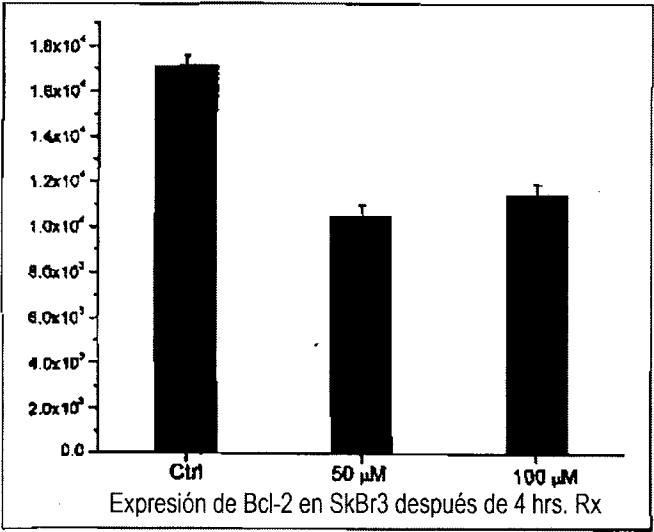


Figura 23

112

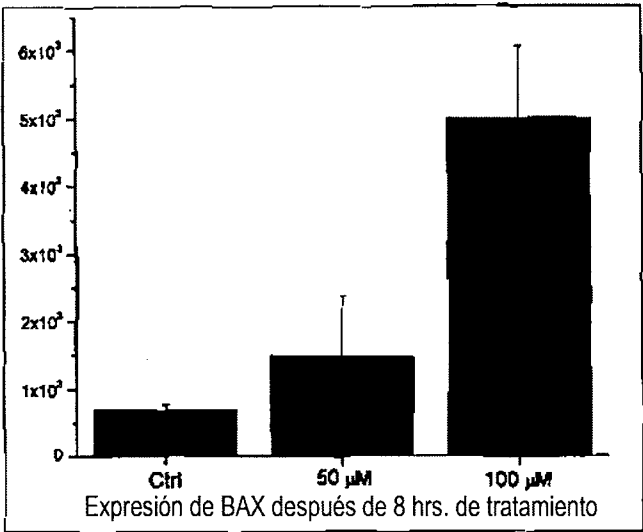


Figura 24

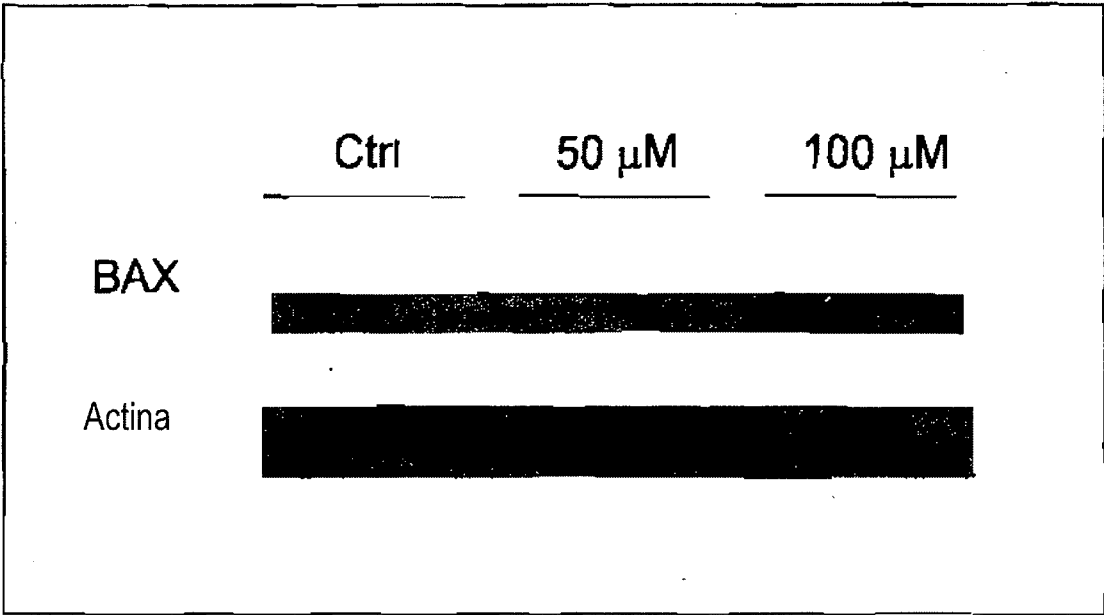


Figura 25

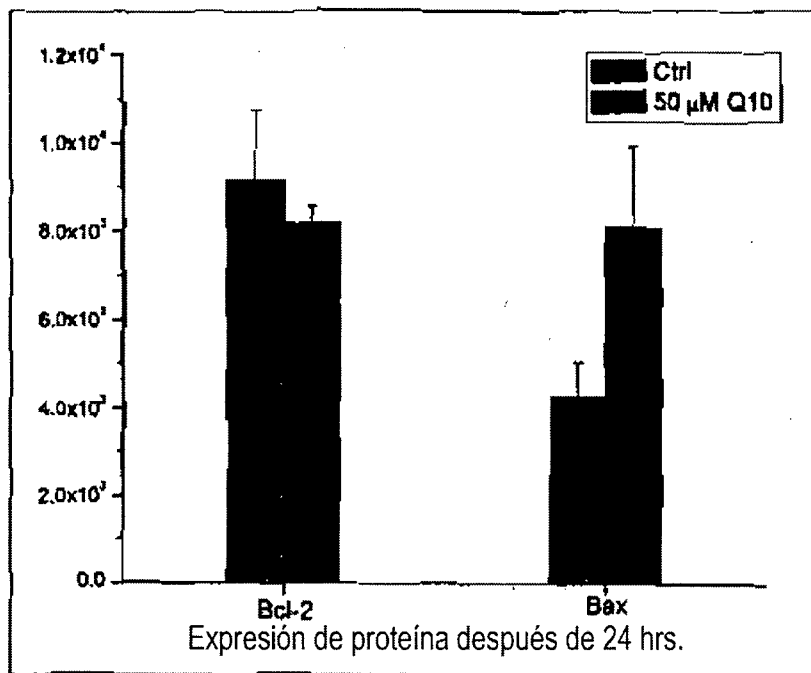


Figura 26

114

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 09/39992

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 31/122, A61K 9/127, A61P 35/00 (2009.01) USPC - 424/94.1, 424/450; 435/375 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 31/122, A61K 9/127, A61P 35/00 (2009.01) USPC - 424/94.1, 424/450; 435/375 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched IPC(8) - A61K 31/122, A61K 9/127, A61P 35/00 (2009.01) - see keyword below USPC - 424/94.1, 424/450; 435/375 - see keyword below Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PubWEST(USPT,PGPB,EPAB,JPAB); Medline, Google Search terms: liposome, phospholipid, coenzyme, Q10, ubiquinone, metabolites, membrane, lipid, apoptosis, oleic acid, mevalonic acid, p53, Bcl-2, Bak, BH3, VEGF, FGF, Hif-1alpha, angiostatin, angiogenic, oncogenic, smad proteins, TGF-beta, PI3K/akt, BH3, Bid, Bim		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	✓ PERSAUD et al., Attenuation of tumor angiogenesis in murine melanoma model using liposomal formulation of Coenzyme Q10. Proc Amer Assoc Cancer Res, 2006, Vol 47, Abstract No 977 [online]. [Retrieved on 2009.05.19]. Retrieved from the Internet: <URL: http://aacrmeetingabstracts.org/cgi/content/abstract/2006/1/230-c> Abstract.	1, 5, 9-10, 15
Y	✓ TUCKER et al. Group IVC cytosolic phospholipase A2 is farnesylated and palmitoylated in mammalian cells. J Lipid Res. October 2005, Vol 46, No 10, pp 2122-33. Abstract	2-4, 6-8, 11-14, 16-19
Y	✓ US 2007/0253941 A1 (NAIDU et al.) 01 November 2007 (01.11.2007), para [0024], [0076], [0098], [0112], [0130], [0133], [0134], and [0137]	2, 11, 16
Y	✓ HAUPT et al. Apoptosis - the p53 network. J Cell Sci. 15 October 2003, Vol 116, No 20, pp 4077-85. Abstract; pg 4080, col 2, top para; pg 4081, col 2; pg 4082, col 1, last para, and col 2; and Fig.1	3-4, 12-14, 17-18
Y	✓ GRAOS et al. Growth-factor-dependent phosphorylation of Bim in mitosis. Biochem. J. 15 May 2005, Vol 388, Pt 1, pp 185-194.	6-8, 19
A	✓	1-19
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 May 2009 (19.05.2009)		Date of mailing of the international search report 02 JUN 2009
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

HANLEY, Elizabeth, A.
McCarter & English, LLP
265 Franklin Street
Boston, MA 02110
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

Date of mailing (day/month/year)

09 June 2010 (09.06.2010)

Applicant's or agent's file reference

117732-03020

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/US2009/039992

International filing date (day/month/year)

09 April 2009 (09.04.2009)

1. The following indications appeared on record concerning:

☐ the applicant☐ the inventor☒ the agent☐ the common representative

Name and Address

BREW, Michael
Carter, DeLuca, Farrell & Schmidt, LLP
445 Broad Hollow Road - Suite 420
Melville, NY 11747
United States of America

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

631-501-5700

Facsimile No.

631-501-3526

E-mail address

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☒ the person☐ the name☐ the address☐ the nationality☐ the residence

Name and Address

HANLEY, Elizabeth, A.
McCarter & English, LLP
265 Franklin Street
Boston, MA 02110
United States of America

State of Nationality

State of Residence

Telephone No.

(617) 449-6510

Facsimile No.

(617) 607-9200

E-mail address

☐ Notifications by e-mail authorized

3. Further observations, if necessary:

Please note the new agent's file reference, as indicated above.

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office☐ the International Searching Authority☐ the Authority(ies) specified for supplementary search☐ the International Preliminary Examining Authority☒ the designated Offices concerned☐ the elected Offices concerned☒ other: BREW, MichaelThe International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Blanc Veronique

Facsimile No. +41 22 338 82 70

e-mail PT08.PCT@WIPO.INT

Telephone No. +41 22 338 74 08

116

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud:		(51) Int Cl: A61K 031/122	
22) Fecha de solicitud:		(71) Solicitante(s) CYTOTECH LABS, LLC	
(30) Prioridad	(31) Prioridad 61/044,085	(32) Fecha 11/04/2008	(33) País US
		(72) Inventor(es) NIVEN RAJIN NARAIN INDUSHEKHAR PERSAUD	
		(74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 11/11/2010		(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT		Fecha: 15/10/2009	
Fecha de presentación de la solicitud: 09/04/2009		N° publicación: WO 2009/126764 A1	
No. de solicitud PCT/US2009/039992			
(54) Titulo: MÉTODOS Y USO DE INDUCCIÓN DE APOPTOSIS EN CÉLULAS CANCERÍGENAS			

Reivindicación(es):

- 1.- Un método comprendiendo:
administrar a una célula una composición que comprende un liposoma que comprende un fosfolípido y un agente bioactivo que comprende la coenzima Q10 o sus metabolitos; y
permite que la coenzima Q10 o sus metabolitos forme un complejo con la coenzima Q10 endógena y lípidos de membrana,
en donde la formación del complejo induce la célula para someterse a apoptosis.
- 2.- El método de la reivindicación 1, en donde los lípidos de membrana comprenden lípidos endógenos seleccionados del grupo que consiste de ácido oleico, ácido mevalónico y quinonas.
- 3.- El método de la reivindicación 1, en donde la composición comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable y en donde la coenzima Q10 está presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60%(p/p) de la composición.
- 4.- El método de la reivindicación 1, en donde la composición tiene una forma seleccionada del grupo que consiste de geles, ungüentos, cremas, bálsamos, lociones, mousses, espumas, rociadores, aerosoles, líquidos, polvos nebulizados y supositorios.
- 5.- El método de la reivindicación 1, en donde la formación del complejo induce modulación de una proteína celular seleccionada del grupo que consiste de p53, Bcl-2, miembros de la subfamilia Bcl-2 y Bak.
- 6.- El método de la reivindicación 5, en donde la modulación de la proteína celular comprende reactivación de la proteína p53.
- 7.- El método de la reivindicación 5, en donde la modulación de la proteína celular comprende modular por lo menos un dominio de unión de BH3 de la familia Bcl-2.
- 8.- El método de la reivindicación 7, en donde por lo menos uno del dominio de unión de BH3 de la familia Bcl-2 se

- seleccionan con el grupo que consiste de Bid, Bim, Bik y sus combinaciones.
- 9.- El método de la reivindicación 1, en donde la célula es una célula oncogénica.
- 10.- Un método para tratar cáncer que comprende:
administrar a una célula oncogénica una composición que comprende un liposoma que comprende un fosfolípido y un agente bioactivo que comprende coenzima Q10 o sus metabolitos; y
permitir que la coenzima Q10 o sus metabolitos para formar un complejo con coenzima endógena Q10 y lípidos de membrana,
en donde la formación del complejo modula factores angiogénicos de la célula oncogénica.
- 11.- El método de la reivindicación 10, en donde los lípidos de membrana comprenden lípidos endógenos seleccionados del grupo que consiste de ácido oleico, ácido mevalónico y quinonas.
- 12.- El método de la reivindicación 10, en donde la composición además comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y en donde la coenzima Q10 está presente en una cantidad de aproximadamente 0.001% a alrededor de 60% (p/pp) de la composición.

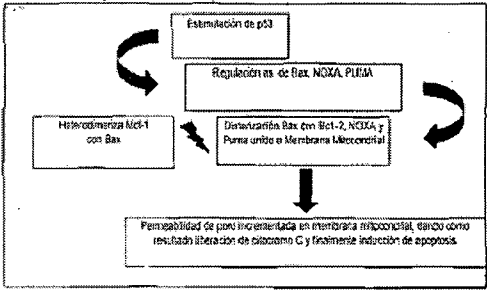


Figura 2

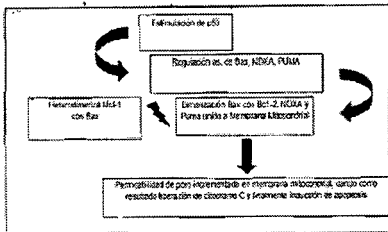


Figura 2

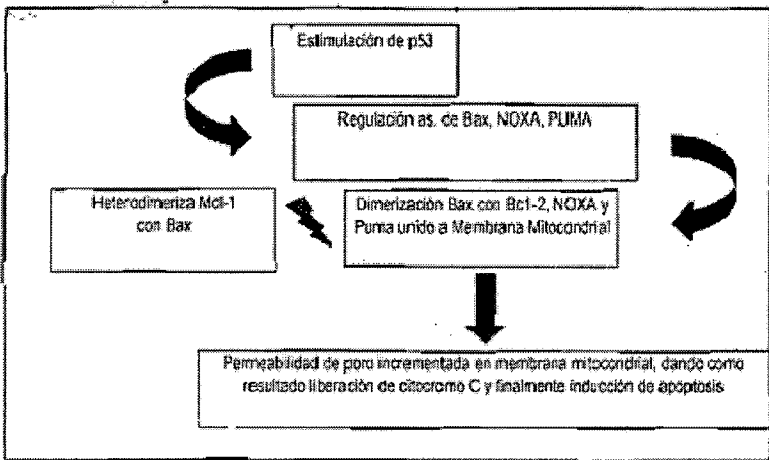


Figura 2

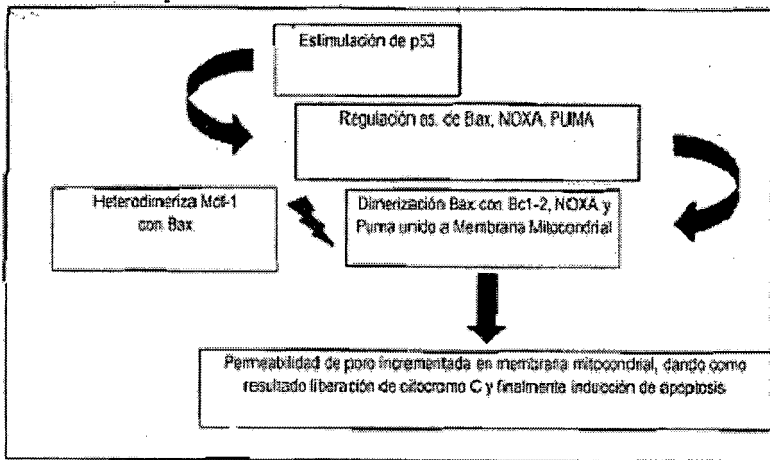


Figura 2

118

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

MIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 85,488
FECHA : OCTUBRE 11 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133917- -00000-0000

Fecha: 2010-10-28 12:54:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 119

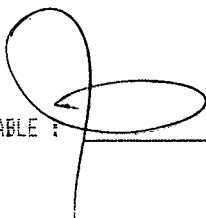
**** CONSIGNACION ****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	Nº. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	156798843	11/10/2010	45,965,000.00

**** CONCEPTO ****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
		TOTAL :	\$ 554,000.00

SDN: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: 17923-84-001-5

119

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 87,940
FECHA : OCTUBRE 20 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-133917- -00000-0000

Fecha: 2010-10-28 12:54:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 119

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	146325060	19/10/2010	84,872,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	45 CAUCIONES
			234,000.00
TOTAL :			\$ 234,000.00

SON: DOSCIENTOS TREINTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

COLO: 17923-841-002-5



No. 10-133917- -00000-0000

Fecha: 2010-10-28 12:54:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 119

PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐
☐
☐
☐
☐

Indicación que se solicita una patente.

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

Descripción de la invención

Dibujos de ser estos pertinentes

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☐

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐
☐
☐
☐

Indicación que se solicita una PCT

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

Dibujos de ser estos pertinentes

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa ☐

Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐
☐
☐
☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐
☐
☐
☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

Representación gráfica de un esquema de trazado

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ☐

Incompleta ☐



Bogotá D.C.,
2020

Doctor(a)
SUAREZ DE PAEZ LUZ CLEMENCIA
Apoderado(a) y/o Representante de
CYTOTECH LABS, LLC

REFERENCIA	Radicación No.	10 133917
	Solicitud internacional	PCT/US2009/039992
	Fecha inicio fase nacional	11/11/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	

15782

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.
2. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)
3. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

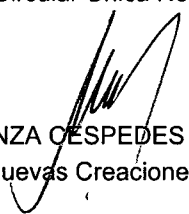
Continúa en la página siguiente...



Continuación radicado No: 10 133917



Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 03 DIC. 2010
adpa11