

**UNA COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA PARA REDUCIR LA GRASA LOCALIZADA
Y SUS USOS**

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se relaciona con una
composición farmacéutica para reducir la grasa localizada,
específicamente, se relaciona con una composición
farmacéutica que consta de micelas que contienen medicamento
y curcumina encapsulada en las micelas, y la composición
10 farmacéutica es para reducción de grasa localizada.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

En años recientes, más y más personas han cambiado
sus percepciones sobre la belleza y han incrementado sus
estándares de salud individual y forma corporal. Como
15 resultado, las personas no sólo se preocupan acerca de la
pérdida de peso sino que se enfocan más en reducir la grasa
localizada o contornear la forma del cuerpo con el fin de
encontrarse con mayor salud y obtener una mejor forma
corporal. Además, los regímenes de pérdida de peso comunes,
20 ya sea por medio de dieta o ejercicio, no pueden reducir la
grasa en ubicaciones específicas. Actualmente, si se desea
reducir grasa localizada en ubicaciones específicas (como por
ejemplo la cintura, abdomen, piernas, barbilla y cara, etc.),
la única tecnología disponible es la liposucción.

25 Actualmente, la liposucción es la tecnología

prevalente para reducir la grasa localizada. No obstante, el procedimiento de la liposucción provoca daños graves a los nervios, vasos sanguíneos y otros tejidos. La liposucción también conlleva riesgos de infecciones, hemorragias graves, 5 anestesia prolongada y condiciones impredecibles que ponen en peligro la vida como por ejemplo embolia por grasa y reacciones alérgicas a anestesia. Además, es común experimentar equimosis e hinchazón significativas, dolor severo y la recuperación posquirúrgica puede requerir de 3 a 10 6 meses y el sitio de la liposucción puede volverse desigual. Por lo tanto, el análisis estadístico ha mostrado que aunque muchas personas han considerado la liposucción para reducir la acumulación de grasa subcutánea localizada o mejorar las curvas del cuerpo, menos del 40 por ciento de estas personas 15 en realidad llevan a cabo la liposucción. Se demuestra que los clientes quienes desean mejorar las curvas del cuerpo o reducir la grasa localizada son disuadidos por los problemas de los efectos secundarios de la liposucción, el dolor después de la liposucción o los riesgos de la liposucción.

20 Aunque algunas composiciones farmacéuticas o equipos reductores de grasa de modo localizado no quirúrgicos pueden parcialmente disminuir los efectos secundarios, habitualmente no son eficaces y vienen con otros efectos secundarios como por ejemplo necrosis de las células normales 25 circundantes, inflamación de los tejidos circundantes y dolor

agudo. Adicionalmente, sus sitios de administración están limitados. Por lo tanto, el mercado demanda en gran medida una composición farmacéutica reductora de grasa de modo localizado eficaz que tenga menos efectos secundarios, un
5 mejor perfil de seguridad y un período de recuperación más corto.

En el caso de los clientes y los médicos que tienen una gran demanda, la preocupación principal es desarrollar una composición farmacéutica reductora de grasa de modo
10 localizado que rompa los límites de las tecnologías actuales.

SUMARIO DE LA INVENCION

En vista de la deficiencia de las técnicas anteriores, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para reducir la grasa localizada, que consta de
15 micelas que contienen medicamento elaboradas de tensioactivos y curcumina encapsulada en las micelas que contienen medicamento. La composición farmacéutica para reducir la grasa localizada puede reducir la grasa en el sitio de administración y tiene las ventajas de alta estabilidad, alta
20 biodisponibilidad de tejido graso, pocos efectos secundarios y liberación sostenida.

La presente invención puede promover la apoptosis de los adipocitos locales en los sitios de administración, logrando así el objetivo de reducir la grasa localizada. La
25 presente invención mejora notoriamente las reacciones

adversas y los efectos secundarios de las técnicas anteriores como por ejemplo necrosis de las células circundantes y reacciones de inflamación. La presente invención es adecuada para inyección directa, implantación subcutánea, inyección intravenosa, infusión implantada, crema, parches y otros métodos de suministro sistémico de absorción por la piel para administrarse en sitios que requieren reducción de grasa sin necesidad o asistencia de cirugía o equipo alguno. Preferiblemente, se administra localmente en la capa de grasa subcutánea por medio de inyección subcutánea. Preferiblemente, la formulación de inyección de la presente composición farmacéutica incluye, pero no se limita a polvo para inyección o polvo para solución para inyección. La grasa localizada que se menciona en la presente incluye, pero no se limita a grasa en la cintura, las piernas, los brazos, las mejillas y la cara.

En la presente invención, el término "extracto turmérico" se refiere a la mezcla de ingrediente de curcumina extraída por cualquier disolvente y cualquier método de extracción, extracto turmérico disponible comercialmente, cualquier mezcla que contenga por lo menos 75% (% en peso) de curcumina, cualquier mezcla que contenga por lo menos 75% (% en peso) de curcuminoide o curcumina comercialmente disponible.

En la presente, curcuminoide es un término

colectivo para curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina.

En la presente invención, el término "resveratrol" se refiere al resveratrol extraído de plantas naturales o
5 resveratrol comercialmente disponible. Preferiblemente, la pureza del resveratrol es del 90% a 100% (% en peso).

En la presente invención, el término "extracto de té verde" se refiere a la mezcla de ingredientes de té verde extraídos por cualquier disolvente y cualquier método de
10 extracción, de extracto de té verde disponible comercialmente y cualquier mezcla que contenga por lo menos 45% de galato de epigallocatequina (EGCG, por sus siglas en inglés) o galato de epigallocatequina disponible comercialmente (EGCG).

En la presente invención, el término "micela" se
15 refiere a una microestructura formada por tensioactivos, en donde cada uno de los tensioactivos tiene un extremo hidrofílico y un extremo hidrofóbico (lipofílico) y los tensioactivos están distribuidos de manera que los extremos hidrofílicos están orientados hacia afuera y los extremos
20 hidrofóbicos (lipofílicos) están orientados hacia adentro para formar la microestructura. Preferiblemente, la microestructura es una estructura esférica, una estructura esferoidal u otras estructuras microestructurales.

En la presente invención, el término "micelas que
25 contienen medicamento" se refiere a las micelas que contienen

curcuminoide. Preferiblemente, las micelas que contienen medicamento se refieren a micelas que contienen curcumina; es decir, las micelas que contienen medicamento se refieren a las micelas que encapsulan o que contienen curcuminoide.

5 Preferiblemente, las micelas que contienen medicamento se refieren a las micelas que encapsulan o que contienen curcumina.

En la presente invención, el término "micelas que contienen segundo medicamento lipofílico" se refiere a las
10 micelas que contienen cualquier medicamento lipofílico excepto curcuminoide. Es decir, las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico se refieren a las micelas que encapsulan o que contienen el segundo medicamento lipofílico.

En la presente, el término "otro medicamento
15 lipofílico (o el segundo medicamento lipofílico)" se refiere a por lo menos uno de quercetina, sinefrina, puerarina, resveratrol y cualquier medicamento lipofílico excepto curcuminoide o una combinación de los mismos. O, el otro medicamento lipofílico se refiere a cualquier medicamento
20 lipofílico excepto curcumina.

En la presente invención, el término "medicamento hidrofílico" se refiere a por lo menos uno de extracto de té verde, galato de epigallocatequina, epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina, galato de galocatequina, galocatequina, galato de catequina, catequina, galato de
25 galocatequina, galato de catequina, catequina, galato de

epigallocatequina (EGCG), cafeína, carnitina, L-carnitina, sinefrina, ácido clorogénico y otros medicamentos hidrofílicos o una combinación de los mismos.

En la presente invención, el término "estado sin precipitación", como se utiliza en la presente, se refiere a un estado en donde no se ha observado precipitación a simple vista, es decir, sin necesidad de la asistencia de instrumentos artificiales.

En la presente invención, el término "grasa subcutánea localizada" se refiere a la grasa subcutánea en el sitio administrado con la composición farmacéutica, formulación de inyección subcutánea o formulación de inyección de capa grasa subcutánea de la presente invención.

En la presente invención, el término "solución farmacéuticamente aceptable" es por lo menos uno de agua para inyección, solución acuosa para inyección, y solución salina normal o una combinación de los mismos.

En la presente invención, el término "anestésico local" es por lo menos uno de amidas, ésteres de ácido para-aminobenzoico, aminoéteres y otros anestésicos locales o una combinación de los mismos. Preferiblemente, las amidas son por lo menos una de dibucaína, lidocaína, mepivacaína HCl, bupivacaína HCl, pirrocaína HCl, prilocaína HCl, digamacaína u oxetazaína o una combinación de los mismos. Preferiblemente, los ésteres de ácido para-aminobenzoico son

por lo menos uno de butacaína, dimetocaína y tutocaína o una combinación de los mismos. Preferiblemente, los aminoéteres son por lo menos uno de quinisocaína y pramocaína o una combinación de los mismos.

5 En la presente invención, el término "antioxidante" es por lo menos uno de beta-caroteno, luteína, licopeno, bilirrubina, vitamina A, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E, ácido úrico, óxido nítrico, nitróxido, piruvato, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasasa,
10 N-acetil cisteína, naringenina u otro antioxidante o una combinación de los mismos.

 En la presente invención, la composición farmacéutica se mantiene en un estado sin precipitación durante por lo menos 24 horas cuando se somete a pruebas de
15 estabilidad acelerada a una temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60\% \pm 5\%$ y en ausencia de luz directa.

 O, la composición farmacéutica se mantiene un estado sin precipitación durante por lo menos 6 meses cuando se somete a prueba de estabilidad acelerada a una temperatura
20 de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60\% \pm 5\%$ y en ausencia de luz directa.

 La presente invención proporciona una composición farmacéutica para ser administrada en un sitio local en un sujeto, que consta de:

25 micelas que contienen medicamento; y

curcuminoide encapsulado en las micelas que contienen medicamento;

5 en donde las micelas que contienen medicamento son una microestructura formada por un derivado de aceite de ricino polioxietileno farmacéuticamente aceptable y el valor del equilibrio hidrofílico-hipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del derivado de aceite de ricino polioxietileno es mayor de 10.

10 Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además una solución acuosa farmacéuticamente aceptable y las micelas que contienen medicamento están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable.

15 Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una combinación de los mismos.

20 Preferiblemente, la proporción en peso del curcuminoide respecto al derivado de aceite de ricino polioxietileno es de 1:8 ~ 1:500.

Preferiblemente, la proporción en peso del curcuminoide respecto al derivado de aceite de ricino polioxietileno es 1:20 ~ 1:150.

25 Preferiblemente, la concentración de curcuminoide

en la composición farmacéutica es de 0,3 ~ 120 mg/g.

Preferiblemente, la concentración de curcuminoide en la composición farmacéutica es de 2 ~ 91 mg/g.

Preferiblemente, el diámetro de las micelas que
5 contienen medicamento es de 3 ~ 50 nm.

Preferiblemente, el diámetro de las micelas que contienen medicamento es de 5 ~ 20 nm.

Preferiblemente, el curcuminoide es curcumina.

Preferiblemente, la composición farmacéutica
10 comprende además micelas que contienen segundo medicamento lipofílico, y las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable; las micelas que
15 contienen el segundo medicamento lipofílico es una segunda microestructura conformada por un segundo derivado de aceite de ricino y polioxietileno y un segundo medicamento lipofílico que es encapsulado en las micelas que contienen el segundo medicamento.

Preferiblemente, el valor del equilibrio
20 hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del segundo derivado de aceite de ricino polioxietileno es mayor de 10.

Preferiblemente, el segundo derivado de aceite de ricino polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP
25 (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y

otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el segundo medicamento lipofílico es por lo menos uno de quercetina, sinefrina, puerarina,
5 resveratrol y cualquier otro medicamento lipofílico excepto curcuminoide o una combinación del mismo.

Preferiblemente, la proporción en peso del curcuminoide respecto al segundo medicamento lipofílico es de 30:1 ~ 1:10.

10 Preferiblemente, la proporción en peso del curcuminoide respecto al segundo medicamento lipofílico es de 20:1 ~ 1:8.

Preferiblemente, la solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende además un medicamento
15 hidrofílico.

Preferiblemente, el medicamento hidrofílico es por lo menos uno de un extracto de té verde, galato de epigallocatequina, epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina, galato de galocatequina, galocatequina,
20 galato de catequina, catequina, galato de epigallocatequina (EGCG), cafeína, carnitina, L-carnitina, sinefrina, ácido clorogénico y otros medicamentos hidrofílicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la proporción en peso del curcuminoide respecto al medicamento hidrofílico es de 30:1 a
25

1:10.

Preferiblemente, la concentración de galato de epigalocatequina (EGCG) en la composición farmacéutica es de 0,1 ~ 15 mg/ml.

5 Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además un cosolvente para incrementar la solubilidad de los medicamentos.

Preferiblemente, el co-solvente es por lo menos uno de polietilenglicol, propilenglicol, etanol y otros
10 cosolventes o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el polietilenglicol es por lo menos uno de PEG 200, PEG 400, PEG 600 y otros polietilenglicoles o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la composición farmacéutica
15 comprende además un agente de suspensión para reducir la velocidad de sedimentación de los medicamentos o micelas.

Preferiblemente, el agente de suspensión es por lo menos uno de alginato sódico, glicerol, carboximetilcelulosa sódica, manitol y otros agentes de suspensión o una
20 combinación de los mismos.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además un excipiente de fase oleosa para incrementar la estabilidad de la composición farmacéutica y la solubilidad de los medicamentos.

25 Preferiblemente, el excipiente en fase oleosa es

por lo menos uno de ácidos grasos insaturados, glicerol, triglicéridos y otros excipientes en fase oleosa o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, los ácidos grasos insaturados son por lo menos uno de ácido oleico, aceite de ricino, aceite de ajonjolí, aceite de semilla de algodón, aceite de frijol de soya, aceite de azafrán, aceite de maíz y otros ácidos grasos insaturados, o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, los triglicéridos son por lo menos uno de triglicéridos de cadena media y otros triglicéridos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la solución acuosa farmacéuticamente aceptable consta de un anestésico local.

Preferiblemente, la solución acuosa farmacéuticamente aceptable consta de un antioxidante.

La presente invención proporciona además un uso de la composición farmacéutica para preparar una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, un dispositivo implantado subcutáneo, un implante subcutáneo, una formulación de inyección intravenosa, una solución para infusión implantada, una crema, un parche u otros sistemas de suministro por absorción por la piel.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además micelas que contienen un segundo medicamento

lipofílico y las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable; en donde las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico es una segunda
5 microestructura conformada por un segundo tensioactivo no iónico y un segundo medicamento lipofílico está encapsulado en las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico.

Preferiblemente, el segundo tensioactivo no iónico
10 es por lo menos uno de [polisorbatepolisorbato](#) 80 (tween 80), 12-hidroxi octadecanoato de 2-hidroxietilo (solutol HS 15), derivados de aceite de ricino polioxietileno y otros tensioactivos no iónicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino
15 polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la solución acuosa
20 farmacéuticamente aceptable comprende además un medicamento hidrofílico.

La presente invención proporciona además un uso de una composición farmacéutica en la preparación de un medicamento o una formulación de inyección subcutánea para
25 reducir la grasa subcutánea localizada; la composición

farmacéutica consta de:

micelas que contienen medicamento; y

curcuminoide encapsulado en las micelas que contienen medicamento;

5 en donde la micela que contiene medicamento es una microestructura conformada por un tensioactivo no iónico farmacéuticamente aceptable y el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo no iónico es mayor de 10.

10 Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además una solución acuosa farmacéuticamente aceptable y las micelas que contienen medicamento están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable.

15 Preferiblemente, el tensioactivo no iónico es por lo menos uno de ~~polisorbate~~polisorbato 80 (Tween 80), 12-hidroxioctadecanoato de 2-hidroxietilo (solutol HS 15), derivados de aceite de ricino polioxietileno y otros tensioactivos no iónicos o una combinación de los mismos.

20 Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una combinación de los mismos.

25 Preferiblemente, la propoción relación en peso del

curcuminoide respecto al tensioactivo no iónico es de 1:8 a 1:500.

Preferiblemente, la concentración de curcuminoide en la composición farmacéutica es de 0,3 ~ 120 mg/g.

5 Preferiblemente, el diámetro de las micelas que contienen medicamento es de 3 ~ 50 nm.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además micelas que contienen un segundo medicamento lipofílico y las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable; en donde las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico es una segunda microestructura conformada por un segundo tensioactivo no iónico y un segundo medicamento lipofílico está encapsulado en las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico.

10

15

Preferiblemente, el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del segundo tensioactivo no iónico es mayor de 10.

20 Preferiblemente, el segundo tensioactivo no iónico es por lo menos uno de [polisorbatepolisorbato](#) 80 (tween 80), 12-hidroxioctadecanoato de 2-hidroxietilo (solutol HS 15), derivados de aceite de ricino polioxietileno y otros tensioactivos no iónicos o una combinación de los mismos.

25 Preferiblemente, el segundo tensioactivo no iónico

es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el segundo medicamento lipofílico
5 es por lo menos uno de quercetina, sinefrina, puerarina, resveratrol y cualquier otro medicamento lipofílico excepto curcuminoide o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la propoción en peso del curcuminoide respecto al segundo medicamento lipofílico es de
10 30:1 ~ 1:10.

Preferiblemente, la propoción en peso del curcuminoide respecto al medicamento lipofílico es de 20:1 ~ 1:8.

Preferiblemente, la solución acuosa
15 farmacéuticamente aceptable comprende además un medicamento hidrofílico.

Preferiblemente, el medicamento hidrofílico es por lo menos uno de extracto de té verde, galato de epigalocatequina, epicatequina, galato de epicatequina, epigalocatequina, galato de galocatequina, galocatequina, galato de catequina, catequina, galato de epigalocatequina (EGCG), cafeína, carnitina, L-carnitina, sinefrina, ácido clorogénico y otros medicamentos hidrofílicos o una combinación de los mismos.

25 Preferiblemente, la propoción en peso del

curcuminoide respecto al medicamento hidrofílico es de 30:1 a 1:10.

Preferiblemente, la propoción en peso del curcuminoide respecto al medicamento hidrofílico es de 20:1 a 1:8.

Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección en la capa de grasa subcutánea, una solución para infusión implantada, una formulación en crema, una formulación en parche u otros sistemas de suministro de absorción por la piel.

Preferiblemente, el medicamento se administrará en un sitio de administración para reducir la grasa subcutánea en el sitio de administración.

Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar en el sitio local es de 0,02 ~ 20 mg/cm².

La formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar es de 0,04 ~ 16 mg/cm².

Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea o una formulación de

inyección de la capa de grasa subcutánea, y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar es 0,01 ~ 40 mg/kg.

Preferiblemente, la formulación del medicamento es
5 una formulación de inyección subcutánea o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar es 0,1 ~ 20 mg/kg.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación del
10 medicamento que se va a administrar en el sitio de administración es de 1~12 veces cada tercer día hasta cada 30 días.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación del medicamento que se va a administrar en el sitio de
15 administración es de 1 ~ 6 veces cada tercer día hasta cada 30 días.

Preferiblemente, el curcuminoide es curcumina.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además por lo menos uno de un co-solvente, un
20 agente de suspensión y un excipiente de fase oleosa, o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la microestructura se co-forma por el tensioactivo no iónico y por lo menos un excipiente en fase oleosa y co-solvente.

25 La presente invención proporciona además un uso de

una composición farmacéutica para preparar un medicamento o una formulación de inyección subcutánea para reducir el peso; la composición farmacéutica consta de:

micelas que contienen medicamento; y
5 curcuminoide encapsulado en las micelas que contienen medicamento;

en donde la micela que contiene medicamento es una microestructura conformada por un tensioactivo no iónico farmacéuticamente aceptable y el valor de equilibrio
10 hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo no iónico es mayor de 10.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además una solución acuosa farmacéuticamente aceptable y las micelas que contienen medicamento están
15 distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable.

Preferiblemente, el curcuminoide es curcumina.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además micelas que contienen un segundo medicamento
20 lipofílico y las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico están distribuidas uniformemente en la solución acuosa farmacéuticamente aceptable; en donde las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico es una segunda microestructura conformada por un segundo tensioactivo no
25 iónico, un segundo medicamento lipofílico es encapsulado en

las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico y el segundo medicamento lipofílico es por lo menos uno de quercetina, sinefrina, puerarina, resveratrol y cualquier otro medicamento lipofílico excepto curcuminoide o una
5 combinación de los mismos.

Preferiblemente, la solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende además un medicamento hidrofílico y el medicamento hidrofílico es por lo menos uno de extracto de té verde, galato de epigallocatequina,
10 epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina, galato de galocatequina, galocatequina, galato de catequina, catequina, galato de epigallocatequina (EGCG), cafeína, carnitina, L-carnitina, sinefrina, ácido clorogénico y otros medicamentos hidrofílicos, o una combinación de los mismos.

15 Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección intravenosa o formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar es de $0,2 \sim 16 \text{ mg/cm}^2$.

20 Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección intravenosa o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea y la dosificación administrada que el medicamento que se va a inyectar es de $0,4 \sim 8 \text{ mg/cm}^2$.

25 Preferiblemente, la formulación del medicamento es

una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección intravenosa o una formulación de inyección en de la capa de grasa subcutánea, y la dosificación administrada del medicamento que se va a administrar es de 0,4 ~ 40 mg/kg.

5 Preferiblemente, la formulación del medicamento es una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección intravenosa o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, y la dosificación administrada del medicamento que se va a inyectar es de 0,8 ~ 20 mg/kg.

10 Preferiblemente, la frecuencia de dosificación del medicamento que se va a administrar en el sitio administrado es de 3 ~ 60 veces cada tercer día hasta cada 20 días.

 Preferiblemente, la frecuencia de dosificación del medicamento que se va a administrar en el sitio administrado
15 es de 6 ~42 veces cada tercer día hasta cada 14 días.

 Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende además por lo menos uno de un co-solvente, un agente de suspensión y un excipiente en fase oleosa o una combinación de los mismos.

20 Preferiblemente, la microestructura es co-formada por el tensioactivo no iónico y por lo menos un excipiente en fase oleosa y co-solvente.

 La presente invención proporciona un método para reducir la grasa subcutánea en un sitio local de un sujeto,
25 que comprende una etapa de administrar una composición

farmacéutica en el sitio local del sujeto, en donde la composición farmacéutica consta de:

micelas que contienen medicamento; y
curcuminoide encapsulado en las micelas que
5 contienen medicamento;

en donde la micela que contiene medicamento es una microestructura formada por un tensioactivo no iónico farmacéuticamente aceptable y el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés)
10 del tensioactivo no iónico es mayor de 10.

Preferiblemente, la etapa es administrar la composición farmacéutica en el sitio local del sujeto con una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, una solución para
15 infusión implantada, una formulación en crema, una formulación en parche u otros sistemas de suministro de absorción por la piel.

Preferiblemente, la dosificación administrada de la composición farmacéutica que se va a inyectar en el sitio
20 local del sujeto es de 0,02 ~ 20 mg/cm².

Preferiblemente, la dosificación administrada de la composición farmacéutica que se va a inyectar en el sitio local del sujeto es de 0,01 ~ 40 mg/kg.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación de
25 la composición farmacéutica que se va a administrar en el

sitio local del sujeto es de 1 ~ 12 veces cada tercer día hasta cada 30 días.

La presente invención proporciona un método para reducir el peso corporal de un sujeto, que comprende una
5 etapa de administrar una composición farmacéutica al sujeto, en donde la composición farmacéutica consta de:

micelas que contienen medicamento; y

curcuminoide encapsulado en las micelas que contienen medicamento;

10 en donde la micela que contiene medicamento es una microestructura formada por un tensioactivo no iónico farmacéuticamente aceptable y el valor de equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo no iónico es mayor de 10.

15 Preferiblemente, la etapa es administrar la composición farmacéutica en el sitio local del sujeto con una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección intravenosa o una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea.

20 Preferiblemente, la dosificación administrada de la composición farmacéutica que se va a inyectar en el sitio local del sujeto es de 0,2 ~ 16 mg/cm².

Preferiblemente, la dosificación administrada de la composición farmacéutica que se va a inyectar en el sitio
25 local del sujeto es de 0,4 ~40 mg/kg.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica que se va a administrar en el sitio local del sujeto es de 3 ~ 60 veces cada tercer día a cada 20 días.

5 Preferiblemente, la etapa es administrar la composición farmacéutica en el sitio local del sujeto con una formulación de inyección subcutánea, una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, una formulación de inyección intravenosa, una solución para infusión implantada,
10 una crema, un parche u otros sistemas de suministro de absorción por la piel.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

La figura 1A es una gráfica de barras que muestra los efectos del extracto turmerico sobre la cantidad de grasa
15 subcutánea en las ratas por medio de administración oral;

la figura 1B es una gráfica de barras que muestra el efecto del extracto turmerico sobre las ganancias de peso corporal total en las ratas por medio de administración oral;

la figura 2A es una gráfica de barras que muestra
20 los efectos de formulaciones de inyección subcutánea de curcumina preparada con diferentes excipientes sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 2B es una gráfica de barras que muestra los efectos de formulaciones de inyección subcutánea de
25 curcumina preparadas con diferentes excipientes sobre las

ganancias de peso corporal total en las ratas;

la figura 3 es una gráfica de barras que muestra los efectos de micelas sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

5 la figura 4 es una gráfica de barras que muestra los efectos de micelas sobre las ganancias de peso corporal total en las ratas;

la figura 5 es una gráfica de barras que muestra los efectos de la formulación de inyección subcutánea de
10 resveratrol sin excipiente sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 6 es una gráfica de barras que muestra los efectos de formulaciones de inyección subcutánea de complejo de curcumina-resveratrol preparada con diferentes
15 excipientes sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 7 es una gráfica de barras que muestra los efectos de curcumina simple, resveratrol simple y complejo de curcumina-resveratrol de formulaciones de
20 inyección subcutánea que comprenden micelas, sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 8A es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-
25 resveratrol sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada

en las ratas;

la figura 8B es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol sobre las ganancias de peso corporal total en las ratas;

la figura 9 es una gráfica de barras que muestra los efectos de la dosificación administrada de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 10 muestra los efectos de composiciones farmacéuticas de un complejo de curcumina y otro medicamento lipofílico sobre la apoptosis de los adipocitos maduros;

la figura 11 es una gráfica de barras que muestra los efectos de la formulación de inyección subcutánea de extracto de té verde sin excipiente sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 12A es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de extracto de curcumina-té verde sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas;

la figura 12B es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto

de té verde sobre las ganancias de peso corporal total en las ratas;

la figura 13 muestra los efectos de las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina-otro medicamento hidrofílico sobre la apoptosis de los adipocitos maduros.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Experimento 1: Efectos del extracto turmérico administrado oralmente sobre la cantidad de grasa subcutánea y el peso corporal en las ratas.

El líquido oral de extracto turmérico fue preparado de la siguiente manera: una cantidad apropiada de agua estéril para inyección se agregó a una cantidad apropiada de extracto turmérico y se mezcló bien para obtener el líquido oral de extracto turmérico.

Para el experimento se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho de siete semanas de edad. En primer lugar, se alimentaron 12 ratas con una diete alta en grasa (Research Diets, Inc.; Cat #D12492) para inducir la acumulación de grasa subcutánea hasta que cada rata pese 330 ± 10 g y las ratas fueron asignadas aleatoriamente en dos grupos, los cuales fueron un grupo control de dieta alta en grasa, y un grupo de administración oral de extracto turmérico, con 6 ratas en cada grupo de manera que no hubiera diferencia estadística en el peso corporal entre los grupos.

El peso corporal de cada rata fue registrado y se define como el "peso corporal pre-experimental" de cada rata. Después se administraron los medicamentos de la siguiente manera:

Grupo de administración oral de extracto turmérico:

5 a las ratas se les administró con una dieta alta en grasa diariamente y se les administró con líquido oral de extracto turmérico por medio de sonda oral y la dosificación administrada de extracto turmérico fue de 100 mg/kg/día y a las ratas se les alimentó durante 20 días consecutivos. La
10 concentración de curcumina en el líquido oral de extracto turmérico es de 95% (% en peso).

Control con dieta alta en grasa: a las ratas se les alimentó diariamente con una dieta alta en grasa pero no se les alimentó con extracto turmérico.

15 Los cambios del peso corporal se registraron diariamente durante el período del experimento y el consumo de agua y alimento se registro semanalmente. A las ratas se les mantuvo en ayuno en el día 20 y se les mató en el día 21.

El peso corporal de cada rata se registro y definió
20 como el "peso corporal post-experimental" de cada rata. La "ganancia de peso corporal total" de cada rata se obtiene al restar su "peso corporal pre-experimental" de su "peso corporal post-experimental". Finalmente, las almohadillas de grasa subcutánea inguinales inferiores bilaterales fueron
25 disecados y pesadas y se calculó la cantidad de grasa

inguinal de cada grupo. Los datos se presentan en Media $\pm$ SD (siglas en inglés para Desviación Estándar) y se analizaron estadísticamente. Los resultados estadísticos se muestran como símbolos o letras, en donde los símbolos o letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (p < 0.05) y símbolos o letras idénticas indican que no hay significancia estadística (p > 0.05).

Consulte la figura 1A y la figura 1B. La figura 1A es una gráfica de barras que muestra el efecto del extracto turmérico sobre la cantidad de grasa subcutánea en las ratas por la vía de administración oral en donde la grasa subcutánea inguinal es la cantidad total de grasa subcutánea inguinal bilateral. La figura 1B es una gráfica de barras que muestra el efecto del extracto turmérico sobre las ganancias de peso corporal total en las ratas por vía de administración oral.

Como se muestra en la figura 1A, la grasa subcutánea inguinal de las ratas en el grupo control con dieta alta en grasa es de $6,4 \pm 1,5$ g, y la grasa subcutánea inguinal de las ratas en el grupo de administración oral de extracto turmérico es de $6,1 \pm 0,8$ g, y no hay significancia estadística entre grupos (p > 0.05). Esto demuestra que la administración oral de extracto turmérico no puede reducir la grasa localizada.

Como se muestra en la figura 1B, las ganancias de

peso corporal total de las ratas con el grupo control con dieta alta en grasa es de 135 ± 12 g y las ganancias del peso corporal total de las ratas en el grupo control con dieta alta en grasa es de 142 ± 10 g y no hay significancia estadística entre grupos ($p > 0.05$). Esto demuestra que la administración oral de extracto turmérico no puede reducir el peso corporal.

Los experimentos anteriores demuestran que el extracto turmérico administrado oralmente no puede reducir la grasa localizada ni puede reducir el peso corporal. Con el fin de resolver este problema, los inventores llevaron a cabo estudios adicionales para desarrollar la composición farmacéutica que comprende curcumina y la formulación de inyección subcutánea de la misma.

Experimento 2: Efectos de la formulación de inyección subcutánea de curcumina sobre la cantidad de grasa subcutánea y el peso corporal en las ratas

Se prepararon una solución salina normal de curcumina, una solución PEG y una solución ELP de curcumina de la siguiente manera:

Preparación de la solución salina normal de curcumina:

se mezclaron 450 mg de curcumina con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección hasta un volumen total de 90 ml. La solución fue mezclada bien para

disolver por completo la curcumina para obtener la solución salina normal de curcumina y la concentración de curcumina en la solución salina normal de curcumina fue de 5 mg/ml.

Preparación de la solución PEG de curcumina

5 Se mezclaron 15 g de polietilenglicol 400 (PEG 400) y 15 g de glicerol con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección hasta un volumen total de 100 ml. La solución fue mezclada bien hasta disolver por completo PEG 400 y glicerol para obtener la mezcla de PEG y
10 glicerol. Se mezclaron 450 mg de curcumina con una cantidad apropiada de PEG y una mezcla de glicerol para obtener un volumen total de 90 ml. La solución fue mezclada bien para disolver completamente la curcumina para obtener la solución de PEG y curcumina. La concentración de curcumina en la
15 solución de PEG y curcumina fue de 5 mg/ml.

Preparación de la solución ELP de curcumina:

se mezclaron 450 mg de curcumina con 80 ~ 140 ml de diclorometano y se agitaron a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disolvió completamente. Se
20 agregaron a la solución 18 g de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) y se agitaron bien a 100 ~ 300 rpm para volatilizar diclorometano. Una vez que el diclorometano se volatilizó completamente, la solución salina normal para inyección se agregó lentamente
25 hasta un volumen total de 90 ml y la solución se mezcló bien

para obtener la solución de ELP y curcumina. En la solución de ELP y curcumina, la concentración de curcumina fue de 5 mg/ml, la concentración de ELP fue de aproximadamente 20% (% en peso) y la proporción en peso de curcumina respecto a ELP fue de 1:40.

Para el experimento se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho de seis semanas de edad. En primer lugar, 20 ratas fueron alimentadas con una dieta alta en grasa (Research Diets, Inc.; Cat #D12492) para inducir la acumulación de grasa subcutánea. La alimentación continuó hasta que cada rata alcanzó un peso de 330 ± 10 g y las ratas fueron asignadas aleatoriamente en cuatro grupos, los cuales fueron un grupo control, un grupo con solución salina normal, un grupo con PEG y un grupo con ELP, con 5 ratas en cada grupo de manera que no existiera diferencia estadística en el peso corporal entre los grupos. El peso corporal de cada rata fue registrado y se definió como el "peso corporal pre-experimental" de cada rata. Después los medicamentos se administraron de la siguiente manera:

La solución salina normal con curcumina, la solución PEG de curcumina y la solución ELP de curcumina se inyectaron en las almohadillas de grasa subcutánea inguinal en el grupo al que se le suministró solución salina normal, el grupo PEG y el grupo ELP, respectivamente. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4

ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 20 mg de curcumina por kilogramo de peso corporal (20 mg/kg; 4 ml/kg x 5 mg/ml = 20 mg/kg). Las ratas en el grupo control se les inyectó con el mismo volumen de solución salina normal de la misma manera a lo descrito en lo anterior.

Los sitios de inyección mencionados en lo anterior fueron las almohadillas de grasa inguinal inferior en las ratas. Las inyecciones bilaterales se administraron uniformemente una vez al día los días 1, 2, 3 y 4 del experimento. A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. Sus cambios en peso fueron registrados diariamente y el consumo de alimento y agua se registró semanalmente. El experimento duró 14 días y las ratas fueron sacrificadas con CO₂ en el día 15.

El peso corporal de cada rata se registró y se definió como el "peso corporal post-experimental" de cada rata. La "ganancia de peso corporal total" de cada rata se obtiene al restar el "peso corporal pre-experimental" del "peso corporal post-experimental". La "ganancia de peso relativa" se obtiene al dividir la ganancia de peso corporal total de cada grupo entre la ganancia de peso corporal total del grupo control.

Las almohadillas de grasa subcutánea inguinal inferiores bilaterales de las ratas fueron disecados y

pesados y los pesos de las almohadillas de grasa subcutánea inguinal inferior bilateral se sumaron para calcular la cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior. La cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior de cada grupo se divide
5 entre la cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior del grupo control para obtener el "peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior".

Los datos se presentan en Media $\pm$ SD (siglas en inglés para Desviación Estándar) y se analizan por ANOVA de
10 una vía. Los resultados estadísticos se muestran como símbolos o letras. Símbolos o letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) y símbolos o letras idénticas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

15 Consulte la figura 2A y la figura 2B. La figura 2A es una gráfica de barras que muestra los efectos de las formulaciones de inyección subcutánea de curcumina preparada con diferentes experimentos sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas. La figura 2B es una
20 gráfica de barras que muestra los efectos de las formulaciones de inyección subcutánea de curcumina preparadas con diferentes excipientes sobre la ganancia de peso corporal total de las ratas.

Como se muestra en la figura 2A, el peso relativo
25 de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el

grupo control fue de $100 \pm 27,6\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con solución salina normal fue de $99,8 \pm 8,0\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo PEG fue de $93,6 \pm 5,8\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo ELP fue de $62,8 \pm 20,5\%$. No hubo diferencia significativa en el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior entre el grupo con solución salina normal y el grupo control, lo que sugiere que la inyección directa de curcumina a la capa de grasa subcutánea del sitio de administración no puede reducir la grasa en el sitio de administración (grasa localizada). No hay diferencia significativa en el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior entre el grupo PEG y el grupo control; el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior del grupo con ELP fue significativamente diferente ($p < 0.05$) con respecto al grupo control y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo ELP se redujo en un $37,2\%$.

Como se muestra en la figura 2B, las ganancias en peso relativa de las ratas en el grupo control fue de $100,0 \pm 30,8\%$, las ganancias en peso relativo de las ratas en el grupo con solución salina normal fue de $110,0 \pm 18,7\%$, las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo PEG fue

de $112,5 \pm 20,7\%$ y las ganancias en peso relativo de las ratas en el grupo ELP fue de $87,1 \pm 33,1\%$. No hubo significancia estadística entre los cuatro grupos ($p > 0.05$), pero el peso corporal de las ratas en el grupo ELP fue de 5 $12,9\%$ o menor que el peso corporal de las ratas en el grupo control, indicando una tendencia de pérdida de peso corporal del grupo ELP.

Los experimentos anteriores demuestran que la inyección directa de curcumina a la capa de grasa subcutánea del sitio de administración no puede reducir la grasa en el 10 sitio de administración (grasa localizada) ni puede reducir el peso corporal. La inyección directa de la composición de curcumina que comprende el excipiente PEG (un agente de suspensión utilizado comúnmente) a la capa de grasa 15 subcutánea del sitio de administración no puede reducir la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) ni puede reducir el peso corporal; no obstante, la inyección de la composición de curcumina que comprende el tensioactivo no iónico ELP a la capa de grasa subcutánea del sitio de 20 administración no solo puede reducir la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) sino que también puede generar una tendencia de pérdida de peso corporal. Por lo tanto, es necesario investigar adicionalmente si la mezcla de curcumina necesita estar constituida con tensioactivos no 25 iónicos para reducir la grasa en el sitio de administración

(grasa localizada) y reducir el peso corporal.

Un análisis adicional demostró que no hay micelas en la solución PEG de curcumina administrada mencionada anteriormente pero que existen micelas en la solución ELP de curcumina y la curcumina quedo encapsulada en las micelas
5 formadas por ELP. De esta manera, es necesario investigar adicionalmente el efecto de las micelas en la reducción de grasa localizada y la reducción en el peso corporal.

Experimento 3: Los efectos de la formulación de
10 inyección subcutánea de composición simple de curcumina que comprende tensioactivos no iónicos sobre la cantidad de grasa subcutánea y el peso corporal en las ratas

Se prepararon una formulación micelar parcial de curcumina, una formulación micelar parcial de curcumina HS-
15 15, una formulación micelar de curcumina ELP y una formulación micelar de curcumina HS-15 de la siguiente manera:

Preparación de formulación micelar parcial de curcumina ELP: se mezclaron 20 g de Kolliphor ELP (también
20 conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección hasta un peso total de 100 g. La solución fue mezclada bien hasta disolver completamente ELP para obtener una solución de ELP 20%. Se mezclaron 400 mg de curcumina con una cantidad
25 apropiada de la solución de ELP 20% hasta un peso total de

80 g. La solución fue mezclada bien hasta disolver completamente la curcumina para obtener la formulación micelar parcial de curcumina ELP. La concentración de curcumina en la formulación micelar parcial de curcumina ELP fue de aproximadamente 5 mg/ml, la concentración de ELP fue de aproximadamente 20% y la proporción en peso de curcumina respecto a ELP fue de aproximadamente 1:40.

Preparación de la formulación micelar parcial de curcumina HS-15: se mezclaron 20 g de Kolliphor HS-15 (HS-15) con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección hasta un peso total de 100 g. La solución fue mezclada bien hasta disolver completamente HS-15 para obtener una solución de HS-15 20%. Se mezclaron 400 mg de curcumina con una cantidad apropiada de la solución de HS-15 20% hasta un peso total de 80 g. La solución fue mezclada bien para disolver por completo la curcumina y obtener la formulación micelar parcial de curcumina HS-15. La concentración de curcumina en la formulación micelar parcial de curcumina HS-15 fue de aproximadamente 5 mg/ml, la concentración de ELP fue de aproximadamente 20% (% en peso) y la proporción en peso de curcumina respecto a HS-15 fue de aproximadamente 1:40.

Preparación de formulación micelar de curcumina ELP: igual que la preparación de la solución de curcumina ELP en el experimento 2.

Preparación de la formulación micelar de curcumina HS-15: se mezclaron 500 mg de curcumina con 80 ~ 140 ml de diclorometano y se agitaron a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disolvió por completo.

5 Se agregaron 20 g de Kolliphor HS-15 (HS-15) y se agitaron a 100 ~ 300 rpm para volatilizar el diclorometano. Una vez que el diclorometano ha sido volatilizado completamente, la solución salina normal para inyección se agregó lentamente hasta un volumen total de 100 g. La solución fue mezclada

10 bien para formar micelas que contienen medicamento para obtener la formulación micelar de curcumina HS-15. La concentración de curcumina en la formulación micelar de curcumina HS-15 fue de aproximadamente 5 mg/ml, la concentración de HS-15 fue de aproximadamente 20% y la

15 proporción en peso de curcumina respecto a HS-15 fue de aproximadamente 1:40.

La formulación micelar parcial de curcumina ELP, la formulación micelar parcial de curcumina HS-15, la formulación micelar de curcumina ELP y la formulación micelar

20 de curcumina HS-15 fueron analizadas por un analizador de tamaño de partícula para determinar si están presentes las micelas y se midieron los diámetros de las micelas.

Los resultados muestran que tanto la formulación micelar parcial con curcumina ELP así como la formulación

25 micelar parcial de curcumina HS-15 presentan precipitados de

medicamento (precipitados de curcumina) y tienen un número menor de micelas que contienen medicamento. Por el contrario, la formulación micelar de curcumina ELP y la formulación micelar de curcumina HS-15 son transparentes sin separación alguna y presentan un número mayor de micelas que contienen medicamento.

Además, los diámetros de partícula de las micelas en la formulación micelar parcial de curcumina ELP, la formulación micelar parcial de curcumina HS-15, la formulación micelar de curcumina ELP y la formulación micelar de curcumina HS-15 fueron $13,16 \pm 0,18$ nm, $13,18 \pm 1,45$ nm, $12,43 \pm 0,40$ nm y $11,46 \pm 0,41$ nm, respectivamente, y los valores de PDI fueron $0,22 \pm 0,03$, $0,18 \pm 0,05$, $0,28 \pm 0,05$ y $0,18 \pm 0,04$, respectivamente.

Los resultados indican que aunque la formulación micelar parcial de curcumina ELP y la formulación micelar parcial de curcumina HS-15 tienen ambas precipitados de medicamento (precipitados de curcumina), sus sobrenadantes aún contienen micelas (diámetro < 250 nm y valor de PDI < 0.4). Por lo tanto, la formulación micelar parcial de curcumina ELP, la formulación micelar parcial de curcumina HS-15, la formulación micelar de curcumina ELP y la formulación micelar de curcumina HS-15 son todas composiciones farmacéuticas de la presente invención.

Para el experimento se utilizaron ratas

Sprague-Dawley macho de seis semanas de edad. En primer lugar, 20 ratas fueron alimentadas con una dieta alta en grasa (Research Diets, Inc.; Cat #D12492) para inducir la acumulación de grasa subcutánea. La alimentación continuó
5 hasta que cada rata pese 330 ± 10 g y las ratas fueron asignadas aleatoriamente en cinco grupos, los cuales fueron un grupo control, un grupo micelar parcial ELP, un grupo micelar parcial HS-15, un grupo micelar ELP y un grupo micelar HS-15, con 4 ratas en cada grupo de manera que no
10 hubiera diferencia estadística en el peso corporal entre los grupos. El peso corporal de cada rata se registró y se define como el "peso corporal pre-experimental" de cada rata. Después se administraron los medicamentos de la siguiente manera:

15 La formulación micelar parcial de curcumina ELP, la formulación micelar parcial de curcumina HS-15, la formulación micelar de curcumina ELP y la formulación micelar de curcumina HS-15 se prepararon cada una y se mezclaron bien (para suspender uniformemente los precipitados en las
20 formulaciones micelares parciales) y se inyectaron en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo micelar parcial ELP, el grupo micelar parcial HS-15, el grupo micelar ELP y el grupo micelar HS-15, respectivamente. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso
25 corporal (4 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada

es de 20 mg de curcumina por kilogramo de peso corporal (20 mg/kg; 4 ml/kg x 5 mg/ml = 20 mg/kg). Las ratas en el grupo control se les inyectó con el mismo volumen de solución salina normal de la misma manera a lo descrito en lo anterior.

Los sitios de inyección mencionados en lo anterior fueron las almohadillas de grasa inguinal inferior en las ratas. Se administraron inyecciones bilaterales de manera uniforme una vez al día los días 1, 2, 3, 4, 5 y 6 del experimento. A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. Sus cambios en peso se registraron diariamente y el consumo de alimento y agua se registró semanalmente. El experimento duró 14 días y las ratas se sacrificaron con CO₂ el día 15.

El peso corporal de cada rata se registró y se define como el "peso corporal post-experimental" de cada rata. La "ganancia de peso corporal total" de cada rata se obtiene al restar su "peso corporal pre-experimental" de su "peso corporal post-experimental". La "ganancia en peso relativa" se obtiene al dividir las ganancias de peso corporal total de cada grupo entre las ganancias de peso corporal total del grupo control.

Las almohadillas de grasa subcutánea inguinal inferiores bilaterales de las ratas fueron disecados y pesados y los pesos de las almohadillas de la grasa

subcutánea inguinal inferior bilaterales se sumaron para calcular la cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior. La cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior de cada grupo se divide entre la cantidad de grasa subcutánea inguinal inferior del grupo control para obtener el "peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior".

Los datos se presentan en Media $\pm$ SD (siglas en inglés para Desviación Estándar) y se analizan por ANOVA de una vía. Los resultados estadísticos se muestran como
10 símbolos o letras. Símbolos o letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) y símbolos o letras idénticos indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

De acuerdo con los métodos de preparación de la
15 formulación y los resultados del análisis de tamaño de partícula anteriores, la concentración de ELP y la concentración de curcumina en la formulación micelar parcial de curcumina ELP fueron idénticas a aquellas de la formulación micelar con curcumina ELP, únicamente el número
20 de micelas que contiene el medicamento difiere. De esta manera, al comparar con el grupo control, la formulación micelar parcial con curcumina ELP no puede reducir de manera significativa la grasa localizada en el sitio de administración pero la formulación micelar de curcumina ELP
25 puede reducir de manera significativa la grasa localizada en

el sitio de administración, esto indica que la formación de micelas que contienen medicamento es el factor crítico para que las composiciones de curcumina reduzcan de manera significativa la grasa localizada en el sitio de administración.

De manera similar, la concentración de HS-15 y la concentración de curcumina en la formulación micelar parcial de curcumina HS-15 son idénticas a las de la formulación micelar de curcumina HS-15, únicamente el número de micelas que contienen medicamento difiere. De esta manera, al comparar con el grupo control, si la formulación micelar parcial de curcumina HS-15 no puede reducir de manera significativa la grasa localizada en el sitio de administración pero la formulación micelar de curcumina HS-15 puede reducir de manera significativa la grasa localizada en el sitio de administración, esto indica que la formación de las micelas que contienen medicamento es el factor crítico para que las composiciones de curcumina reduzcan de manera significativa la grasa localizada en el sitio de administración.

Por otra parte, la concentración de ELP y la concentración de curcumina en la formulación micelar parcial de curcumina ELP son idénticas a las de la formulación micelar de curcumina ELP, únicamente el número de micelas que contiene el medicamento difiere. De esta manera, al comparar

con el grupo control, si la formulación micelar parcial de curcumina ELP no puede reducir de manera significativa el peso corporal, pero la formulación micelar de curcumina ELP puede reducir de manera significativa el peso corporal, esto
5 indica que la formación de las micelas que contiene medicamento es el factor crítico para que las composiciones de curcumina reduzcan de manera significativa el peso corporal.

Consulte la figura 3. La figura 3 es una gráfica de
10 barras que muestra los efectos de las micelas sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas. En la figura 3, el EJE Y es el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior (en %) y el EJE X de izquierda a derecha es el grupo control, el grupo micelar parcial HS-15, el grupo
15 micelar HS-15, el grupo micelar parcial ELP y el grupo micelar ELP, respectivamente.

Como se muestra en la figura 3, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control fue de $100,0 \pm 26,4\%$, el peso relativo de la
20 grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo micelar parcial HS-15 fue de $74,7 \pm 10,1\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo micelar HS-15 fue de $67,6 \pm 8,6\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el
25 grupo micelar parcial ELP fue de $71,8 \pm 22,9\%$ y el peso

relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo micelar ELP fue de $65,0 \pm 7,2\%$.

En comparación con las ratas en el grupo control, las ratas en el grupo micelar parcial HS-15 y el grupo
5 micelar parcial ELP mostró una tendencia de reducción en sus pesos relativos de la grasa subcutánea inguinal inferior, pero la diferencia no alcanzó significancia estadística. Los pesos relativos de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo micelar HS-15 y el grupo micelar ELP
10 disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) en un 32,4% y 35%, respectivamente.

Los datos anteriores demuestran que aunque la concentración de tensioactivo no iónico y la concentración de curcumina en las formaciones micelares parciales son
15 idénticas a las de las formaciones micelares, y que las formaciones micelares parciales contienen ciertas micelas, las formaciones micelares parciales únicamente pueden promover una tendencia de reducción de la grasa localizada pero no pueden reducir de manera significativa la grasa
20 localizada. Por el contrario, las formaciones micelares con numerosas micelas pueden reducir significativamente la grasa localizada.

Esto demuestra que la formación de micelas que contienen medicamento es un factor crítico para que las
25 composiciones de curcumina reduzcan de manera significativa

la grasa localizada en el sitio de administración. Es decir, las composiciones de curcumina comprenden algunas micelas que contienen medicamento que pueden reducir una tendencia de reducción de grasa localizada y las composiciones de curcumina con numerosas micelas que contienen medicamento
5 pueden reducir significativamente la grasa localizada.

Consulte la figura 4. La figura 4 es una gráfica de barras que muestra los efectos de micelas sobre las ganancias de peso corporal total de las ratas. En la figura 4, el EJE Y
10 es la ganancia de peso relativa (en %) y el EJE X de izquierda a derecha es el grupo control, el grupo micelar parcial HS-15, el grupo micelar HS-15, el grupo micelar parcial ELP y el grupo micelar ELP, respectivamente.

La figura 4 muestra que las ganancias de peso
15 relativa de las ratas en el grupo control fue de $100,0 \pm 20,6\%$, las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo micelar parcial HS-15 fue de $100,0 \pm 17,3\%$, las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo micelar HS-15 fue de $96,4 \pm 18,5\%$, las ganancias en peso relativa de
20 las ratas en el grupo micelar parcial ELP fue de $73,8 \pm 11,2\%$ y las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo micelar ELP fue de $54,8 \pm 14,3\%$.

En comparación con las ratas en el grupo control, las ratas en el grupo micelar parcial ELP mostraron una
25 tendencia de reducción en su ganancia de peso relativa pero

la diferencia no alcanzó significancia estadística ($p > 0.05$). La ganancia en peso relativa en las ratas en el grupo micelar ELP se redujo en un 45,2% y fue significativamente diferente a la del grupo control ($p < 0.05$).

5 Los datos anteriores muestran que aunque la concentración de tensioactivo no iónico y la concentración de curcumina en las formulaciones micelares parciales son idénticas a las de las formaciones micelares y que las formaciones micelares parciales contienen algunas micelas,
10 las formaciones micelares parciales únicamente pueden inducir una tendencia de reducción del peso corporal pero no reducir de manera significativa el peso corporal. Por el contrario, las formaciones micelares con numerosas micelas pueden reducir de manera significativa el peso corporal.

15 Esto demuestra que la formación de micelas que contienen medicamento es un factor crítico para que las composiciones de curcumina reduzcan de manera significativa el peso corporal. Es decir, las composiciones de curcumina con algunas micelas que contienen medicamento pueden promover
20 una tendencia de pérdida de peso corporal, y las composiciones de curcumina con numerosas micelas que contienen medicamento pueden reducir de manera significativa el peso corporal.

 Aunque la formulación micelar de HS-15 no se redujo
25 de manera significativa el peso corporal en este experimento,

basándose en las experiencias del inventor, la formulación micelar HS-15 también puede reducir de manera significativa el peso corporal si la frecuencia de dosificación o la dosificación administrada se incrementan. Por lo tanto, el
5 tensioactivo no iónico HS-15 también se debe incluir en el ámbito de la presente invención.

Experimento 4: Preparación de las composiciones farmacéuticas de la presente invención

Los experimentos anteriores demuestran que la
10 utilización de tensioactivos no iónicos para formar micelas es el factor crítico para que las composiciones de curcumina reduzcan de modo significativo la grasa localizada. Por lo tanto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica de curcumina sencilla para reducir la grasa
15 localizada y sus características son que la composición farmacéutica simple de curcumina comprende micelas que contienen medicamento.

Preparación de la composición farmacéutica simple de curcumina es la siguiente:

20 (a) mezclar un primer peso de curcumina con un disolvente y agitar a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disuelva por completo;

(b) agregar un segundo peso de un tensioactivo farmacéuticamente aceptable y agitar bien a 100 ~ 300 rpm
25 para volatilizar el disolvente. En donde el valor del

equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo es **mayor de 10**; y

(c) una vez que el disolvente se volatiliza por completo, agregar lentamente un tercer peso de una solución acuosa farmacéuticamente aceptable para obtener micelas que contienen medicamento; y

(d) filtrar a través de un filtro de 0.2 μm y almacenar la solución filtrada que comprende micelas que contienen medicamento en la oscuridad y la refrigeración.

En donde, en el paso (c) la micela que contiene medicamento es una microestructura conformada por el tensioactivo, y la curcumina es encapsulada en la micela que contiene el medicamento; el tercer peso es mayor que o igual a 0 g.

Preferiblemente, el procedimiento de operación del paso (c) es: una vez que el disolvente se volatiliza por completo, agregar lentamente el tercer peso de la solución acuosa farmacéuticamente aceptable y mezclar bien para formar micelas que contienen medicamento.

Preferiblemente, en el paso (a), el punto de ebullición del disolvente es menor que el del agua pura.

Preferiblemente, en el paso (a) el disolvente es un disolvente hidrofílico.

Preferiblemente, el disolvente es hidrofílico es por lo menos uno de metanol, etanol, acetona y otros

disolventes hidrofílicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el disolvente en el paso (a) es un disolvente lipofílico (hidrofóbico).

Preferiblemente, el disolvente lipofílico
5 (hidrofóbico) es por lo menos uno de éter, benceno, cloroformo, acetato de etilo, diclorometano, hexano y otros disolventes lipofílicos (hidrofóbicos) o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en el paso (b) el tensioactivo es
10 un tensioactivo no iónico.

Preferiblemente, el tensioactivo no iónico es por lo menos uno de ~~poliserbate~~polisorbato 80 (Tween 80), 12-hidroxi octadecanoato de 2-hidroxi etilo (solutol HS 15), derivados de aceite de ricino y polioxietileno y otros
15 tensioactivos no iónicos, o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino y polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros derivados de aceite de ricino polioxietileno o una
20 combinación de los mismos.

Preferiblemente en los pasos (a) y (b), la proporción en peso de la curcumina del primer peso y el tensioactivo del segundo peso es de 1:5 a 1:500.

Preferiblemente, en los pasos (a) y (b), la
25 proporción en peso de curcumina del primer peso y el

tensioactivo del segundo peso es de 1:20 a 1:150.

Preferiblemente, en los pasos (a) y (c), la proporción en peso de la curcumina del primer peso y la solución acuosa farmacéuticamente aceptable del tercer peso es 1:400 a 3:50.

Preferiblemente, en el paso (c), la solución acuosa farmacéuticamente aceptable es agua para inyección, solución acuosa para inyección o solución salina normal.

Preferiblemente, en el paso (c) la solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende un anestésico local.

Preferiblemente, en el paso (c) la solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende un antioxidante.

Experimento 5: Determinación de la calidad de las composiciones farmacéuticas

Experimento 5-1: Análisis de la composición

Dejar reposar la composición farmacéutica durante por lo menos 20 minutos. Si la composición no tiene estratificación, analícese adicionalmente con un analizador de partícula.

Determinar si la composición farmacéutica comprende micelas con un analizador de tamaño de partícula. Si el diámetro de partícula de la composición farmacéutica, después de ser analizada con un analizador de partícula es menor de 250 nm y el valor de PDI es menor de 0,4, la solución de la composición farmacéutica se considera clara y transparente

cuando se observa a simple vista y el haz de luz se puede observar cuando la solución de la composición farmacéutica es iluminada con un láser, esto indica que la composición farmacéutica comprende micelas.

5 Si las micelas están presentes en la composición farmacéutica, la composición farmacéutica preparada es la composición farmacéutica para reducir la grasa localizada en la presente invención.

Preferiblemente, si la composición farmacéutica no
10 tiene estratificación y no contiene precipitados después de dejar reposar, la composición farmacéutica preparada es la composición farmacéutica preferible de la presente invención.

Experimento 5-2: Determinación de la estabilidad de las composiciones farmacéuticas mediante el análisis de la
15 distribución de los diámetros de partículas

Utilizando un analizador de tamaño de partícula (adquirido de Malvern) para determinar la distribución de los diámetros de partícula y el índice de polidispersibilidad (PDI, por sus siglas en inglés). Si el PDI es menor de 0,4, esto
20 indica que la estabilidad de la composición farmacéutica es buena, es decir, que las micelas en la composición farmacéutica pueden existir de manera estable.

Experimento 5-3: Determinación de la estabilidad de composiciones farmacéutica por prueba de estabilidad
25 acelerada.

La condición de almacenamiento de la composición farmacéutica de la presente invención es $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$. Con el fin de probar la estabilidad de las composiciones farmacéuticas, el inventor colocó las composiciones farmacéuticas en un ambiente de temperatura relativamente alta y humedad relativamente elevada (temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $60\% \pm 5\%$) para prueba de estabilidad acelerada, observando durante cuanto tiempo las micelas en la composición farmacéutica pueden existir de manera estable en una condición de temperatura relativamente elevada para calcular la vida útil de la composición farmacéutica a $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$ con base en la ecuación de prueba de estabilidad acelerada, como se detalla a continuación.

Si la composición farmacéutica tiene una vida útil de n meses en una condición de 25°C , entonces la vida útil de la composición farmacéutica en una condición de 5°C será $2^{((25-5)/10)}$ veces de n meses. Es decir, la vida útil de la composición farmacéutica en una condición de 5°C es 2^2 veces de n meses, esto es, 4 veces.

Por ejemplo, si la vida útil de la composición farmacéutica es de 6 meses en una condición de 25°C , entonces la vida útil de la composición farmacéutica en una condición de 5°C es de 24 meses ($6 \text{ meses} \times 4 \text{ veces} = 24 \text{ meses}$).

Preferiblemente, la composición farmacéutica mantiene un estado sin precipitación durante por lo menos 24

horas cuando se somete a la prueba de estabilidad acelerada en una condición de temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con una humedad relativa de $60\% \pm 5\%$ y la ausencia de luz directa.

Preferiblemente, la composición farmacéutica se
5 mantiene en un estado sin precipitación durante por lo menos 6 meses cuando se somete a la prueba de estabilidad acelerada en una condición de temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, con una humedad relativa de $60\% \pm 5\%$ y en ausencia de luz directa.

Preferiblemente, la composición farmacéutica se
10 mantiene en un estado sin precipitación durante por lo menos 24 meses en una condición de temperatura de $2 \sim 8^{\circ}\text{C}$.

Experimento 6: Cargado de medicamento máximo de micelas que contienen medicamento formadas por diferentes tensioactivos no iónicos

15 Debido a que el cargado de medicamento máximo de las micelas que contienen medicamento afecta directamente el volumen inyectado, tiene un impacto muy grande sobre el volumen de medicamento, efectos secundarios y la carga debe ser tolerada por la capa de grasa subcutánea localizada
20 (por ejemplo, la capa de grasa subcutánea de la cara) en una administración única. De esta manera, este experimento investiga la carga de medicamento máxima de micelas que contienen medicamento formadas por diferentes tensioactivos no iónicos para determinar cuál tensioactivo no iónico es el
25 mejor excipiente para preparar las composiciones

farmacéuticas de la presente invención.

Para este experimento se seleccionaron cuatro tensioactivos no iónicos. Los cuatro tensioactivos no iónicos fueron Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP), Kolliphor HS-15 (HS-15), Cremophor RH 40 (abreviado como RH 40) y ~~polisorbate~~polisorbato 80 (también conocido como Tween 80).

El experimento se dividió en 4 grupos, los cuales fueron un grupo ELP, un grupo HS-15, un grupo RH40 y un grupo Tween 80.

Procedimiento experimental:

(a') se mezclaron 2.0 g (un ejemplo del primer peso) de curcumina con 300 ~ 500 ml de diclorometano y se agito a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disolvió completamente.

(b') se agregaron a la solución 18.0 g (un ejemplo del segundo peso) de uno de los tensioactivos no iónicos mencionados en lo anterior, y se agito a 100 ~ 300 rpm para volatilizar diclorometano; y

(c') se obtuvo una composición de 20 g en total después de que el disolvente se volatilizó completamente; se pesaron 2 g de la composición y se agregaron 8 g (un ejemplo del tercer peso) de solución salina normal para la inyección y se mezclaron bien para obtener una composición que se va a probar. La concentración de curcumina en la composición que

se va a probar fue de 20 mg/g, y la concentración del tensioactivo no iónico fue de 18%.

Las composiciones que se van a probar a partir del grupo ELP, el grupo HS-15, el grupo RH40 y el grupo Tween 80 se dejaron reposar durante por lo menos 20 minutos para observar si se produce la estratificación. Si se produce la estratificación, esto indica que la concentración de curcumina es demasiado elevada y provocará que las micelas en la composición que se van a probar sean reventadas. Es decir, el tensioactivo no iónico no puede ser utilizado para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención la cual comprende una cantidad tan alta como 20 mg/g de curcumina.

Los resultados experimentales muestran que las composiciones que se van a probar en el grupo HS-15 y el grupo RH40 tuvieron estratificación y únicamente las composiciones que se van a probar del grupo ELP y del grupo Tween 80 no tuvieron estratificación. Por lo tanto, el cargado de medicamento máximo de las micelas que contienen medicamento formadas por HS-15 y RH40 son ambas menores de 20 mg/g. Las micelas que contienen medicamento formadas por ELP y Tween 80 se pueden utilizar para preparar composiciones farmacéuticas con 20 mg/g de curcumina.

Debido a que Tween 80 es tóxico, diferentes farmacopeas nacionales limitan toda la concentración de

inyección de Tween 80 a menos de 0,4% para evitar efectos
adversos o toxicidad. De esta manera, el cargado de
medicamento máximo de las micelas que contienen medicamento
formadas por Tween 80 debe ser de 0,44 mg/g (cálculo: 20 mg/g
5 $\times (0,4\%/18\%) = 0,44 \text{ mg/g}$).

Con el fin de determinar el cargado de medicamento
máximo de ELP, los inventores realizaron adicionalmente el
experimento 6 y determinaron que la carga de medicamento
máxima de ELP es mayor que o igual a 111 mg/g (cuando la
10 proporción de curcumina respecto a ELP es de 1:8, la
composición farmacéutica preparada contiene 111 mg/g de
curcumina).

Los resultados anteriores indican que ELP es el
mejor excipiente para preparar las composiciones
15 farmacéuticas de la presente invención. La concentración de
curcumina puede alcanzar 111 mg/g en las composiciones
farmacéuticas preparadas con ELP mientras que la
concentración de curcumina es menor de 20 mg/g en las
composiciones farmacéuticas preparadas con otros
20 tensioactivos no iónicos (Consulte la tabla 1).

Con el fin de determinar cuales de los
tensioactivos no iónicos entre HS-15 y RH40 tiene la carga de
medicamento mínima, el inventor utilizó adicionalmente
tensioactivos no iónicos para preparar las composiciones
25 farmacéuticas de la presente invención con 10 mg/g de

curcumina. Los resultados mostraron que ELP, HS-15, RH40 y Tween 80 todos se pueden utilizar para preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención con 10 mg/g de curcumina, y las composiciones farmacéuticas de la presente invención con 10 mg/g de curcumina son transparentes sin estratificación y los diámetros de las partículas medidas fueron de $15,95 \pm 0,24$ nm, $88,23 \pm 116,06$ nm, $21,63 \pm 9,34$ nm, $11,37 \pm 0,13$ nm, respectivamente, y los valores de PDI fueron $0,32 \pm 0,02$, $0,48 \pm 0,27$, $0,26 \pm 0,09$, $0,33 \pm 0,04$, respectivamente.

En la presente, cuando se usó HS-15 para preparar la composición farmacéutica de la presente invención con 10 mg/g de curcumina, el valor de PDI de la composición farmacéutica preparada era mayor de 0,4 y no satisface la definición de la presencia de micelas en la composición farmacéutica de la presente invención (el diámetro de la partícula medido es menor de 250 nm, el valor de PDI es menor de 0,4, la solución de la composición farmacéutica se considera clara y transparente cuando se observa a simple vista y se puede observar un haz de luz entre la solución de la composición farmacéutica que es iluminada con un láser). Por lo tanto, entre los tensioactivos no iónicos utilizados para este experimento, HS-15 tiene la carga de medicamento mínima.

Tabla 1. Carga de medicamento máxima de micelas que contienen medicamento formadas por diferentes tensioactivos no iónicos

5	Grupo	Carga máxima de medicamento de las micelas (mg/g)	Dosificación tolerada máxima de carga de medicamento micelar
	Grupo con ELP	≥ 111	≥ 111
	Grupo con HS-15	< 10	< 10
10	RH40	$< 20, \geq 10$	$< 20; \geq 10$
	Tween 80	≥ 20	0.44

Experimento 6: Preparación de composiciones farmacéuticas con Kolliphor ELP (ELP)

Con el fin de determinar la proporción apropiada entre curcumina y Kolliphor ELP (ELP) y la carga de medicamento máxima cuando se preparan las composiciones farmacéuticas en la presente invención con ELP, se utilizaron en este experimento diversas proporciones entre curcumina y Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) para preparar una serie de composiciones farmacéuticas de la presente invención y se llevó a cabo un análisis de estabilidad de las mismas.

Hubo 9 grupos en este experimento, es decir, del primero al noveno grupo. La preparación de composición farmacéutica en cada grupo fue aproximadamente la misma que

el procedimiento experimental en el Experimento 5. Las únicas diferencias fueron el peso de curcumina (el primer peso en el paso (a')), el peso de ELP (el segundo peso en el paso (b')), y el peso de la solución salina normal para inyección (el tercer peso en el paso (c')). En este experimento, la línea de guía de agregar la totalidad del peso de curcumina (el primer peso), el peso de ELP (el segundo peso) y el peso de la solución salina normal para inyección (el tercer peso) es como se muestra en la tabla 2.

En este experimento, las proporciones de curcumina respecto a ELP (proporción en peso) en el primer grupo al noveno grupo fueron de 1:4, 1:5, 1:8, 1:10, 1:20, 1:40, 1:100, 1:150, 1:500, respectivamente, y las concentraciones finales de curcumina en las composiciones farmacéuticas preparadas en el primero al noveno grupo fueron de 200 mg/g, 167 mg/g, 111 mg/g, 91 mg/g, 47,62 mg/g, 7,5 mg/g, 3 mg/g, 2 mg/g y 0,5 mg/g, respectivamente. Es decir, el método de preparación de la composición farmacéutica en el primero al noveno grupo, las proporciones en peso de curcumina en el paso (a') respecto a ELP en el paso (b') (las proporciones del primer peso respecto al segundo peso) fueron de 1:4, 1:5, 1:8, 1:10, 1:20, 1:40, 1:100, 1:150, 1:500, respectivamente, y después de agregar el tercer peso de solución salina normal para inyección en el paso (c'), las concentraciones finales de curcumina en las composiciones farmacéuticas preparadas

fueron de 200 mg/g, 167 mg/g, 111 mg/g, 91 mg/g, 47,62 mg/g, 7,5 mg/g, 3 mg/g, 2 mg/g y 0,5 mg/g, respectivamente. En donde, cuando la concentración final del medicamento está presente como mg/g, esto indica el número de miligramos de curcumina por gramo de composición farmacéutica.

Se utilizó un analizador de tamaño de partícula para determinar si están presentes las micelas en las composiciones farmacéuticas y se midió el diámetro de partícula de las micelas.

Para determinar la estabilidad de las composiciones farmacéuticas, la distribución de los diámetros de partícula y el índice de polidispersibilidad (PDI, por sus siglas en inglés) se midieron con un analizador de tamaño de partícula. El contenido de curcumina en las micelas se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC; por ejemplo, HPLC-UV) y se definió como el "contenido de medicamento inicial".

Tabla 2. Una tabla de preparación de muestra para preparar composiciones farmacéuticas con ELP

Grupo	Proporción de curcumina respecto a ELP (proporción en peso)	Concentración final de curcumina en la composición farmacéutica (mg/g)
1	1:4	200
2	1:5	167

Grupo	Proporción de curcumina respecto a ELP (proporción en peso)	Concentración final de curcumina en la composición farmacéutica (mg/g)
5	3	1:8
	4	1:10
	5	1:20
	6	1:40
	7	1:100
	8	1:150
	9	1:500

10 Las composiciones farmacéuticas se sometieron a
prueba de estabilidad acelerada para observar si se producía
la estratificación cuando las composiciones farmacéuticas se
almacenaron a condiciones de almacenamiento de alta
temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) durante 3 meses. El contenido de
15 medicamento en las micelas se determinó mediante
cromatografía líquida de alta resolución (HPLC; por ejemplo,
HPLC-UV), y se definió como el "contenido de medicamento
después de la prueba de estabilidad acelerada". El
"porcentaje de contenido de medicamento" se calculó al
20 dividir el "contenido de medicamento después de la prueba de
estabilidad acelerada" entre el "contenido de medicamento
inicial". Si el porcentaje del contenido de medicamento es
mayor que o igual a 95%, esto indica que la estabilidad de la
composición farmacéutica es excelente.

25 Consulte la tabla 3. La tabla 3 es el resultado de

análisis de estabilidad de las composiciones farmacéuticas. La tabla 3 muestra la presencia de micelas en la segunda a la novena composición farmacéutica. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas preparadas con proporciones de curcumina respecto a ELP de 1:5 a 1:500 son todas composiciones farmacéuticas para reducir la grasa localizada en la presente invención.

En términos de estabilidad, cuando las proporciones de curcumina respecto a ELP son de 1:4 y 1:5, PDI es mayor de 0,4. Cuando las proporciones de curcumina respecto a ELP son de 1:8 a 1:500, el PDI es menor de 0,4. Por lo tanto, con el fin de preparar la composición farmacéutica para reducir la grasa localizada en la presente invención con una mejor estabilidad, la proporción de curcumina respecto a ELP debe ser menor de un quinto ($1/5$). Es decir, con el fin de preparar la composición farmacéutica para reducir la grasa localizada en la presente invención con una mejor estabilidad, basada en 1 unidad de peso definida como el peso de curcumina, el peso de ELP debe ser mayor de 5 unidades de peso. Preferiblemente, en base a 1 unidad de peso definida como el peso de curcumina, el peso de ELP es de 8 ~ 500 unidades en peso. Preferiblemente, en base a 1 unidad de peso definida como el peso de curcumina, el peso de ELP es de 20 ~ 150 unidades de peso.

Según los datos de la tabla 3, cuando las composiciones farmacéuticas en el quinto al octavo grupo se almacenaron a 25°C durante 3 meses, el porcentaje de contenido de medicamento de curcumina en cada muestra fue mayor de 95% y no muestra una tendencia significativa de disminución en comparación con el contenido de medicamento inicial. Este resultado indica que las composiciones farmacéuticas tienen excelente estabilidad y se basan en la ecuación de la prueba de estabilidad acelerada, las composiciones farmacéuticas pueden ser almacenadas a temperaturas de 2 ~ 8°C en refrigeración durante por lo menos 24 meses.

Tabla 3. Análisis de estabilidad de las composiciones farmacéuticas

Grupo	Proporción de curcumina respecto a ELP (proporción en peso)	Diámetro de partícula de micela (nm)	PDI	Apariencia después de la prueba de estabilidad acelerada	Contenido de medicamento después de la prueba de estabilidad acelerada
1	1:4	772,5 ± 198,92	0,79 ± 0,36		
2	1:5	153,97 ± 40,17	0,41 ± 0,13		
3	1:8	13,17 ± 0,21	0,2 ± 0,02		
4	1:10	12,47 ± 0,23	0,17 ± 0,01		
5	1:20	12,57 ± 0,12	0,137 ± 0,03	claro sin estratificación	103,82 ± 2,07
6	1:40	11,59 ± 0,27	0,174 ± 0,0	claro sin estratificación	100,78 ± 0,51

7	1:100	$12,26 \pm 0,12$	$0,096 \pm 0,07$	claro sin estratificación	$100,62 \pm 0,21$
8	1:150	$12,93 \pm 0,29$	$0,197 \pm 0,02$	claro sin estratificación	$102,45 \pm 0,05$
9	1:500	$12,66 \pm 0,14$	$0,16 \pm 0,01$		

5 En la tabla anterior, las celdas en blanco indican
que el contenido no fue analizado.

Experimento 7: Efecto de la formulación de
inyección subcutánea del complejo curcumina-resveratrol sobre
la grasa subcutánea de las ratas.

10 Experimento 7-1: Efectos de la formulación de
inyección subcutánea simple de resveratrol sobre la grasa
subcutánea de las ratas

Preparación de la formulación de inyección
subcutánea de resveratrol:

15 Se mezclaron resveratrol con una cantidad apropiada
de solución salina normal para inyección para obtener una
formulación de inyección subcutánea de resveratrol.

Se asignaron ratas a un grupo control con una dieta
alta en grasa y un grupo con resveratrol, con 6 ratas por
20 grupo. Las ratas fueron alimentadas de la misma manera
descrita en el experimento 2. La formulación de inyección
subcutánea de resveratrol se inyectó en la capa de grasa
subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo tratado
con resveratrol y cada dosificación inyectada fue de 8 mg de
25 resveratrol por kilogramo de peso corporal (8 mg/kg).

Las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa se les inyectó con el mismo volumen de agua para inyección de la misma manera a lo descrito en lo anterior.

Los sitios de inyección mencionados en lo anterior
5 fueron las almohadillas de grasa inguinal inferior de las ratas. Las inyecciones bilaterales se administraron de manera uniforme una vez al día en los días 1, 3 y 5 del experimento. A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasa durante la duración completa del experimento. Sus cambios en
10 peso se registraron diariamente y se registró el consumo de alimento y agua semanalmente. El experimento duró por 20 días y a las ratas se les sacrificó en el día 21 con CO₂.

Consulte la figura 5. La figura 5 es una gráfica de barras que muestra los efectos de la formulación de inyección
15 subcutánea de resveratrol sin excipiente sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas.

Los resultados de la figura 5 muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de
20 $100.00 \pm 21,51\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con resveratrol fue de $111,59 \pm 11,288\%$. No hay diferencia significativa en el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior entre las ratas en el grupo con resveratrol y las ratas en el
25 grupo control con una dieta alta en grasa, lo que indica que

la composición de extracto de planta lipofílico-resveratrol, sin excipiente, no puede reducir la grasa en el sitio de administración (grasa localizada). Por lo tanto, el inventor considera que mezclando directamente resveratrol y curcumina e inyectarlo en la grasa subcutánea puede no reducir la grasa localizada de manera que el inventor investigó adicionalmente si los excipientes pueden mejorar la eficacia de lipólisis local de un medicamento complejo (resveratrol + curcumina).

Experimento 7-2: Efecto de la fórmula de complejo de curcumina-resveratrol con excipientes sobre la grasa subcutánea de las ratas

Se prepararon una solución de complejo de curcumina-resveratrol que comprende la formulación A y una solución de complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP de la siguiente manera:

Preparación de la solución de complejo de curcumina-resveratrol que comprende la formulación A:

Se molieron y se mezclaron bien 0,05 g de resveratrol, 0,2 g de curcumina y 2 g de manitol para obtener una formulación en polvo. Se mezclaron 0,05 g de carboximetilcelulosa (CMC) con 40 ml de agua estéril y se calentó a una temperatura de 60°C ~ 70°C para disolver carboximetilcelulosa (CMC), y 0,055 g de polisorbatepolisorbato 80 (Tween 80) se agregó y se mezcló bien hasta que se disolvió completamente. Se agregó agua a un

volumen total de 50 ml para obtener una formulación líquida. La formulación líquida se agregó en la formulación en polvo y se mezcló bien para obtener una formulación A que comprende solución de complejo de curcumina-resveratrol. La formulación
5 A es Tween 80 con manitol. La formulación A que comprende la solución del complejo de curcumina-resveratrol no comprende micelas, la concentración de curcumina fue de 4 mg/ml y la concentración de resveratrol fue de 1 mg/ml.

Preparación de la solución del complejo de
10 curcumina-resveratrol que comprende ELP:

Se mezclaron juntos 0,2 g de resveratrol, 0.8 g de curcumina y 150 ~ 200 ml de diclorometano y se agitaron a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disolvió por completo. Se agregó 40 g de Kolliphor ELP
15 (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) y se agitaron a 100 ~ 300 rpm para volatilizar diclorometano. Una vez que el diclorometano se ha volatilizado por completo, se agregó lentamente la solución salina normal para inyección a un volumen total de 200 ml. La solución se mezcló bien para
20 obtener una solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP. La solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP constituida de micelas, la concentración de Kolliphor ELP (ELP) fue de aproximadamente 20% y la relación en peso de curcumina,
25 resveratrol y ELP fue de 4:1:200.

A las ratas se les asignaron aleatoriamente en 4 grupos, los cuales son un grupo control con una dieta alta en grasa, un grupo con la formulación A de la fórmula del complejo de baja dosificación, un grupo con una fórmula de complejo de alta dosificación con la formulación A y un grupo con fórmula de complejo de baja dosificación con ELP. A las ratas se les alimentó de la misma manera a lo descrito en el experimento 2.

La solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende la formulación A se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal en el grupo de la fórmula de complejo de baja dosificación con fórmula A, y cada volumen de inyección fue de 0,2 ml de la solución del complejo curcumina-resveratrol que comprende la formulación A por kilogramo de peso corporal (0,2 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 1 mg de fórmula de complejo de curcumina-resveratrol por kilogramo de peso corporal (1 mg/kg); la solución de complejo de curcumina-resveratrol que comprende la formulación A se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal de las ratas en el grupo del complejo de dosificación alta con la formulación A, y cada volumen de inyección fue de 1 ml de la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende la formulación A por kilogramo de peso corporal de manera que cada dosificación inyectada fue de 5 ml de la fórmula del complejo de

curcumina-resveratrol por kilogramo de peso corporal (5 mg/kg); la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal de las ratas en el grupo de fórmula del complejo de dosificación baja con ELP y cada volumen de inyección fue de 0,2 ml de la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP por kilogramo de peso corporal (0,2 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 1 mg de fórmula del complejo de curcumina-resveratrol por kilogramo de peso corporal (1 mg/kg). A las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa se les inyectó con el mismo volumen de solución salina normal para inyección de la misma manera a lo descrito en lo anterior.

Los sitios de inyección mencionados en lo anterior son las almohadillas de grasa inguinal inferiores de las ratas. Las inyecciones bilaterales se administraron uniformemente una vez al día los días 1, 3 y 5 del experimento. Las ratas fueron alimentadas con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. El experimento duró por 20 días y las ratas fueron sacrificadas en el día 21 con CO₂.

Consulte la figura 6. La figura 6 es una gráfica de barras que muestra los efectos de las formulaciones de inyección subcutánea del complejo de curcumina-resveratrol preparado con diferentes excipientes sobre la grasa

subcutánea localizada en las ratas.

Los resultados en la figura 6 muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de 100,0 $\pm$ 13%, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de la fórmula de complejo de dosificación baja con formulación A fue de 134,9 $\pm$ 39%, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de la fórmula de complejo de dosificación alta con la formulación A fue de 134,9 $\pm$ 14% y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de la fórmula del complejo de baja dosificación con ELP fue de 71,1 $\pm$ 14%. En comparación con el grupo control con una dieta alta en grasa, ninguno del grupo de la fórmula del complejo con dosificación baja con formulación A ni el grupo de la fórmula del complejo de alta dosificación con la formulación A pudieron reducir la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) ($p > 0.05$).

El peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de la fórmula del complejo de dosificación baja con ELP es significativamente diferente del obtenido de las ratas en el grupo control ($p < 0.05$), y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de la fórmula del complejo de dosificación baja con ELP se redujo en un 28,9%. En base a la

preparación descrita en lo anterior, la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP administrada al grupo comprende las micelas que contienen medicamento (curcumina encapsulada) y las micelas que contienen el
5 segundo medicamento lipofílico (resveratrol encapsulada). Por lo tanto, de manera similar a la composición farmacéutica simple de curcumina, la formación de micelas es el factor crítico para la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP para reducir de manera
10 significativa la grasa localizada.

Experimento 7-3: Comparación entre la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol y una composición farmacéutica simple.

La composición farmacéutica simple de curcumina, la
15 composición farmacéutica simple de resveratrol y la composición farmacéutica compleja de curcumina-resveratrol de la presente invención se prepararon de la siguiente manera:

Preparación de la composición farmacéutica simple de curcumina: igual que la preparación de la solución de
20 curcumina ELP descrita en el experimento 2. En donde la concentración de curcumina fue de 5 mg/ml.

Preparación de la composición farmacéutica simple de resveratrol: aproximadamente igual a la preparación de la solución de curcumina ELP descrita en el experimento 2,
25 únicamente que la curcumina ha sido sustituida por

resveratrol. La concentración de resveratrol en la composición farmacéutica simple de resveratrol preparada fue de 5 mg/ml.

Preparación de la composición farmacéutica del
5 complejo de curcumina-resveratrol: igual que la preparación de la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP descrita en el experimento 7-2. En donde la concentración total de curcumina y resveratrol fue de 5 mg/ml y la proporción de curcumina respecto a resveratrol fue de
10 4:1.

A las ratas se les asignó en el grupo control con una dieta alta en grasa, un grupo de curcumina, un grupo de resveratrol y un grupo con el complejo de curcumina-resveratrol, con 5 ratas en cada grupo. A las ratas
15 se les alimentó de la misma manera a lo descrito en el experimento 2.

La composición farmacéutica simple de curcumina, la composición farmacéutica simple de resveratrol y la composición farmacéutica del complejo de
20 curcumina-resveratrol se inyectaron en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de curcumina, el grupo de resveratrol y el grupo del complejo de curcumina-resveratrol, respectivamente. Cada volumen de inyección fue de 2 ml por kilogramo de peso corporal (2
25 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 10 mg

de medicamento por kilogramo de peso corporal (10 mg/kg). Es decir, las ratas en el grupo de curcumina se les administró con 10 mg de curcumina por kilogramo de peso corporal; las ratas en el grupo de resveratrol se les administró con 10 mg de resveratrol por kilogramo de peso corporal; las ratas en el grupo del complejo de curcumina-resveratrol se les administró con 8 mg de curcumina y 2 mg de resveratrol por kilogramo de peso corporal. Las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa se les inyectó con el mismo volumen de solución salina normal para inyección de la misma manera a lo descrito en lo anterior.

Los sitios de inyección mencionados en lo anterior fueron las almohadillas de grasa inguinales inferiores de las ratas. Se administraron inyecciones bilaterales uniformemente una vez al día los días 1, 2, 3 y 4 del experimento. A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. El experimento duró por 14 días y las ratas fueron sacrificadas en el día 15 con CO₂.

Debido a que cada grupo se le administraron 10 mg/kg de medicamento cada vez, la eficacia de lipólisis local del grupo del complejo de curcumina-resveratrol debe encontrarse entre la del grupo de curcumina y el grupo de resveratrol. Si la eficacia de lipólisis local del grupo del complejo curcumina-resveratrol es mejor que la del grupo de curcumina y el grupo resveratrol, esto indica que la

curcumina y el resveratrol en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol manifiesta sinergia en la eficacia de lipólisis local.

Consulte la figura 7. La figura 7 es una gráfica de barras que muestra el efecto de formulaciones de inyección subcutánea simple de curcumina, simple de resveratrol y del complejo de curcumina-resveratrol que comprende micelas sobre la cantidad de grasa subcutánea localizada en las ratas.

Los resultados en la figura 7 muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de $100,0 \pm 14,6\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de curcumina fue de $93,5 \pm 6,5\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de resveratrol fue de $91,6 \pm 27,8\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo del complejo de curcumina-resveratrol fue de $80,0 \pm 5,8\%$. Comparado con el grupo control con una dieta alta en grasa, el grupo de curcumina o el de resveratrol no pueden reducir de manera significativa la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) ($p > 0.05$).

El peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo del complejo de curcumina-resveratrol es significativamente diferente al de

las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa ($p < 0.05$) y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo del complejo de curcumina-resveratrol se redujo en un 20%.

5 La comparación entre la eficacia de lipólisis local del grupo de curcumina, el grupo de resveratrol y el grupo del complejo de curcumina-resveratrol demuestra que la curcumina y el resveratrol en el grupo del complejo de curcumina-resveratrol manifiesta sinergia en la eficacia de
10 la lipólisis local.

Experimento 7-4: Efectos de la frecuencia de dosificación sobre la grasa subcutánea y el peso corporal de las ratas.

En este experimento a las ratas en cada grupo se
15 les administró con una cantidad igual de la dosificación inyectada total de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol pero con diferente frecuencia de dosificación para determinar el efecto de la frecuencia de dosificación sobre la grasa subcutánea y el peso corporal de
20 las ratas. En este experimento, se administró a otras ratas con el ingrediente principal de la formulación de inyección de lipólisis local, disponible en el mercado para comparar simultáneamente los efectos de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol de la presente
25 invención y la formulación de inyección de lipólisis local en

el mercado sobre la grasa subcutánea y el peso corporal de las ratas.

Se prepararon una composición farmacéutica de solución de desoxicolato sódico y un complejo de curcumina-resveratrol de la siguiente manera:

Preparación de la solución de desoxicolato sódico: una cantidad apropiada de desoxicolato sódico se mezcló con agua estéril para inyección para producir una concentración de desoxicolato sódico 2,575 mg/ml. La solución se mezcló bien para obtener una solución de desoxicolato sódico. En donde el desoxicolato sódico (adquirido de Sigma-Aldrich, cat# D6750) es el ingrediente principal de la formulación de inyección de la lipólisis local ATX-101 (nombre comercial: Kybella) en el mercado.

Preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol: igual que la preparación de la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP descrita en el experimento 7-2. En donde la concentración total de curcumina y resveratrol fue de 5 mg/ml y la proporción de curcumina respecto a resveratrol fue de 4:1.

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente en 4 grupos, los cuales fueron un grupo control con una dieta alta en grasa, un grupo con desoxicolato sódico, un grupo con curcumina-resveratrol a una frecuencia de dosificación

elevada (abreviado como grupo de frecuencia con dosificación alta en este experimento) y un grupo con curcumina-resveratrol con una frecuencia de dosificación baja (abreviado como grupo de frecuencia con dosificación baja en este experimento). A las ratas se les alimentó de la misma manera a lo descrito en el experimento 2.

Los medicamentos se administraron de la siguiente manera:

Grupo de desoxicolato sódico: la solución de desoxicolato sódico se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de desoxicolato sódico. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 10,3 mg (10,3 mg/kg; cálculo: $2,575 \text{ mg/ml} \times 4 \text{ ml/kg} = 10,3 \text{ mg/kg}$). A las ratas fueron inyectadas una vez al día en el día 1, 3 y 5 del experimento con 3 inyecciones en total, de manera que la dosificación total fue de 30,9 mg/kg ($10,3 \text{ mg/kg} \times 3 \text{ veces} = 30,9 \text{ mg/kg}$).

Grupo de frecuencia con dosificación alta: la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación alta. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 20 mg

(20 mg/kg; cálculo: $5 \text{ mg/ml} \times 4 \text{ ml/kg} = 20 \text{ mg/kg}$). Las ratas fueron inyectadas una vez al día los días 1, 3, 5, 7, 9 y 11 del experimento con 6 inyecciones en total de manera que la dosificación total fue de 120 mg/kg ($20 \text{ mg/kg} \times 6 \text{ veces} =$
5 120 mg/kg).

Grupo de frecuencia con dosificación baja: la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de
10 frecuencia con dosificación baja. Cada volumen de inyección fue de 8 ml por kilogramo de peso corporal (8 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 40 mg (40 mg/kg ; cálculo: $5 \text{ mg/ml} \times 8 \text{ ml/kg} = 40 \text{ mg/kg}$). Las ratas fueron inyectadas una vez al día los días 1, 3 y 5 del
15 experimento, con 3 inyecciones en total de manera que la dosificación total fue de 120 mg/kg ($40 \text{ mg/kg} \times 3 \text{ veces} = 120 \text{ mg/kg}$).

Grupo control con una dieta alta en grasa: se inyectó a las ratas con agua para inyección de la misma
20 manera a lo descrito en lo anterior.

Las ratas fueron alimentadas con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. El experimento duró por 20 días y las ratas se sacrificaron en el día 21 con CO_2 .

25 Consulte la figura 8A y la figura 8B. La figura 8A

es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol sobre la grasa subcutánea localizada en las ratas. La figura 8B es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol sobre las ganancias de peso corporal total de las ratas.

Los resultados en la figura 8A muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación alta fue de $100,0 \pm 22,6\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de desoxicolato sódico fue de $88,8 \pm 16,7\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con frecuencia de dosificación alta fue de $62,3 \pm 5,1\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación baja fue de $65,4 \pm 11,3\%$.

En comparación con el grupo control con una dieta alta en grasa, el grupo de frecuencia con dosificación alta y el grupo de frecuencia con dosificación baja pueden reducir de modo significativo la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) ($p < 0.05$). Por lo tanto, si la concentración de la composición farmacéutica del complejo de

curcumina-resveratrol es suficiente, la frecuencia de dosificación baja puede alcanzar el efecto de la lipólisis local.

En comparación con el grupo de frecuencia con dosificación baja, el efecto de la lipólisis del grupo de frecuencia con dosificación alta es mejor. Aunque no hubo diferencia significativa entre la frecuencia de dosificación alta y la frecuencia de dosificación baja, la frecuencia de dosificación alta puede alcanzar una mejor tendencia de efecto de la lipólisis local.

Los resultados en la figura 8B muestran que las ganancias de peso relativo en las ratas del grupo control con dieta alta en grasa fue de $100,0 \pm 11,6\%$, las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo de desoxicolato sódico fue de $100,2 \pm 12,6\%$, las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación alta fue de $63,5 \pm 5,5\%$ y las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación baja fue de $78,7 \pm 11,5\%$. En comparación con las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo control con dieta alta en grasa, las ganancias en peso relativa de las ratas tanto en el grupo de frecuencia con dosificación baja como en el grupo de frecuencia con dosificación alta disminuyó de manera significativa ($p < 0.05$) y las ganancias en peso relativa disminuyó en un 21,3% y 36,5%, respectivamente, demostrando

que el efecto de pérdida de peso es muy significativo.

Por lo tanto, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol de la presente invención puede reducir de manera significativa el peso corporal y la
5 eficacia de pérdida de peso de la frecuencia de dosificación alta es significativamente mejor en comparación con la frecuencia de dosificación baja ($p < 0.05$).

En base a las experiencias del inventor, cuando la frecuencia de dosificación adecuada para las ratas es de
10 3 ~ 6 veces, la frecuencia de dosificación adecuada para los humanos es de 1 ~ 12 veces. Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 1 ~ 6 veces.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 1 ~ 12 veces cada tercer día hasta cada
15 30 días. Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 1 ~ 6 veces cada tercer día hasta cada 30 días. O, preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 3 ~ 60 veces cada tercer día a cada 20 días; preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los
20 humanos es de 6 ~ 42 veces cada tercer día a cada 14 días.

Experimento 7-5: Efectos de la dosificación administrada sobre la grasa subcutánea de las ratas.

En este experimento a las ratas se les administraron dosificaciones diferentes de la composición
25 farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol para

determinar los efectos de la dosificación administrada sobre la grasa subcutánea de las ratas. Adicionalmente, en este experimento, a otras ratas se les administró el ingrediente principal de otra formulación de inyección de la lipólisis local actualmente bajo ensayos clínicos para comparar simultáneamente los efectos de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol de la presente invención y la otra formulación de inyección de la lipólisis local actualmente bajo ensayos clínicos sobre la grasa subcutánea de las ratas.

Se prepararon una solución ELP, una solución LIPO-202 y una composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol de la siguiente manera:

Solución ELP: se mezclaron 18 g de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección hasta un volumen total de 90 ml. La solución se mezcló bien para obtener la solución ELP. En donde la concentración de ELP fue de aproximadamente 20%.

Preparación de la solución LIPO-202:

LIPO-202 es una formulación de inyección de la lipólisis local actualmente bajo ensayos clínicos y su ingrediente principal es xinafonato de salmeterol.

(i) Se mezclaron 1 mg de xinafonato de salmeterol (adquirido de Sigma-Aldrich) con una cantidad apropiada de

metanol hasta un volumen total de 1 ml para obtener 1 mg/ml de solución concentrada.

(ii) La solución concentrada se diluyó de manera seriada 10 veces con agua estéril para preparar una solución de xinafonato de salmeterol a una concentración final de 0,01 µg/ml, la cual es la solución LIPO-202 utilizada en este experimento.

Preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol:

Igual que la preparación de la solución del complejo de curcumina-resveratrol que comprende ELP descrita en el experimento 7-2. En donde la concentración total de curcumina y resveratrol fue de 5 mg/ml y la proporción de curcumina respecto a resveratrol fue de 4:1 y la concentración de ELP fue del 20%.

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente en 7 grupos los cuales fueron el grupo control con una dieta alta en grasa, un grupo control, un grupo LIPO-202, un grupo con fórmula complejo de 1 mg/ml, un grupo con fórmula complejo de 5 mg/ml, un grupo con fórmula complejo de 10 mg/ml y un grupo con fórmula complejo de 20 mg/ml. Las ratas fueron alimentadas de la misma manera descrita en el experimento 2.

Los medicamentos se administraron en la siguiente manera:

El grupo control: La solución ELP se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg).

5 El grupo LIPO-202: La solución LIPO-202 se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo LIPO-202. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 0,04 µg/kg (0,04 µg/kg;
10 cálculo: $0,01 \mu\text{g/ml} \times 4 \text{ ml/kg} = 0,04 \mu\text{g/kg}$).

El grupo con la fórmula complejo de 1 mg/ml: La composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con
15 la fórmula complejo de 1 mg/ml. Cada volumen de inyección fue de 0,2 ml por kilogramo de peso corporal (0,2 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 1 mg/kg (1 mg/kg; cálculo $5 \text{ mg/ml} \times 0,2 \text{ ml/kg} = 1 \text{ mg/kg}$).

El grupo con la fórmula complejo de 5 mg/ml:
20 La composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con la fórmula complejo de 5 mg/ml. Cada volumen de inyección fue de 1 ml por kilogramo de peso corporal (1 ml/kg) de manera que
25 cada dosificación inyectada fue de 5 mg/kg (5 mg/kg; cálculo

5 mg/ml $\times$ 1 ml/kg = 5 mg/kg).

El grupo con la fórmula complejo de 10 mg/ml:
La composición farmacéutica del complejo de
curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa
5 subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con la
fórmula complejo de 10 mg/ml. Cada volumen de inyección fue
de 2 ml por kilogramo de peso corporal (2 ml/kg) de manera
que la dosificación inyectada fue de 10 mg/kg (10 mg/kg;
cálculo 5 mg/ml $\times$ 2 ml/kg = 10 mg/kg).

10 El grupo con la fórmula complejo de 20 mg/ml:
La composición farmacéutica del complejo de
curcumina-resveratrol se inyectó en la capa de grasa
subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con la
fórmula complejo de 20 mg/ml. Cada volumen de inyección fue
15 de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de manera
que cada dosificación inyectada fue de 20 mg/kg (20 mg/kg;
cálculo 5 mg/ml $\times$ 4 ml/kg = 20 mg/kg).

El grupo control con dieta alta en grasa: A las
ratas se les inyectó agua para inyección de la misma manera a
20 lo descrito en lo anterior.

A las ratas se les inyectó una vez al día los días
1, 2, 3 y 4 del experimento. Las ratas fueron alimentadas con
una dieta alta en grasa durante la duración completa del
experimento. El experimento duró durante 14 días y las ratas
25 fueron sacrificadas en el día 15 con CO₂.

Consulte la figura 9. La figura 9 es una gráfica de barras que muestra el efecto de la dosificación administrada de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol en la grasa subcutánea localizada en las ratas.

Los resultados en la figura 9 muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de $100 \pm 15,2\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control fue de $99,2 \pm 22,0\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo LIPO-202 fue de $97,8 \pm 12,8\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con fórmula complejo de 1 mg/ml fue de $90,1 \pm 12,2\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo confórmula complejo de 5 mg/ml fue de $80,9 \pm 13,9\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo confórmula complejo de 10 ml/mg fue de $73,9 \pm 9,5\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con fórmula complejo de 20 mg/ml fue de $64,1 \pm 12,0\%$.

Por lo tanto, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol alcanzó un efecto de la lipólisis local significativo a una dosis de 5 mg/kg y los

efectos son más significativos dependiendo de una dosificación más alta. Aunque la dosificación de 1 mg/kg de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol no alcanzó un efecto de la lipólisis local significativo, indujo una tendencia. En base a las experiencias de los inventores, si se incrementa la frecuencia de dosificación, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-resveratrol también puede alcanzar un efecto de la lipólisis local significativa a una dosificación de 1 mg/kg.

En base a las experiencias de los inventores, cuando se administra dosificación adecuada para las ratas es de 1 mg/kg ~ 20 mg/kg, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,01 ~ 40 mg/kg. Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,01 ~ 20 mg/kg.

Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,02 ~ 20 mg/cm². Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,04 ~ 16 mg/cm². Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,02 ~ 12 mg/cm². Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para humano es de 0,4 ~ 8 mg/cm².

Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,01 ~ 40 mg/kg del peso

corporal. Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,4 ~ 40 mg/kg del peso corporal. Preferiblemente, la dosificación administrada adecuada para los humanos es de 0,8 ~ 20 mg/kg del peso corporal.

Experimento 8: Efecto de las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina sobre la lipólisis.

Este experimento utilizó curcumina y medicamentos lipofílicos diferentes de resveratrol para preparar composiciones farmacéuticas complejas para determinar la eficacia de la lipólisis de diversas composiciones farmacéuticas de complejo lipofílico sobre los adipocitos maduros.

Este experimento eligió utilizar puerarina, quercetina y sinefrina para preparar diversas composiciones farmacéuticas de complejo lipofílico.

Experimento 8-1 Pruebas de citotoxicidad

Se determinó si 50 ppm de curcumina, puerarina, quercetina o sinefrina tienen toxicidad para las células distintas de los adipocitos mediante el ensayo MTT. Únicamente si el medicamento se consideraba no tóxico se procedía con la prueba de lipólisis.

Los resultados experimentales muestran que 50 ppm de curcumina, puerarina, quercetina y sinefrina no son citotóxicos a las células somáticas de las ratas diferentes a

los adipocitos de manera que esta dosificación no alteró a las células somáticas en general.

Experimento 8-2 Eficacia de la lipólisis en adipocitos maduros.

5 Se prepararon un medio de cultivo celular del grupo control con DMSO, un medio de cultivo celular con curcumina, un medio de cultivo celular con puerarina, un medio de cultivo celular con quercetina, un medio de cultivo celular con sinefrina, un medio de cultivo celular complejo con
10 curcumina-puerarina, un medio de cultivo celular complejo con curcumina-quercetina y un medio de cultivo celular con un complejo con curcumina-sinefrina de la siguiente manera:

El medio de cultivo celular del grupo control con DMSO: Se mezcló DMSO con una cantidad apropiada de agua
15 estéril para obtener una solución de DMSO 0,5%. La solución de DMSO 0,5% se mezcló con un medio de cultivo celular (nombre del producto: Medio de Eagle modificado por Dulbecco, adquirido de Gibco) para preparar un medio de cultivo celular de grupo control con DMSO en donde la proporción en volumen
20 entre la solución de DMSO 0,5% y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con curcumina: La curcumina se mezcló con una cantidad apropiada de solución de DMSO 0,5% para obtener una solución de curcumina.
25 La solución de curcumina se mezcló con un medio de cultivo

celular (nombre del producto: Medio de Eagle modificado por Dulbecco, adquirido de Gibco) para preparar un medio de cultivo celular con curcumina que contiene 50 ppm de curcumina en donde la proporción en volumen entre la solución de curcumina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con puerarina: La puerarina (adquirida de Sigma-Aldrich) se mezcló con una cantidad apropiada de solución de DMSO 0,5% para obtener una solución de puerarina. La solución de puerarina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar un medio de cultivo celular con puerarina que contiene 50 ppm de puerarina en donde la proporción en volumen entre la solución de puerarina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con quercetina: La quercetina (adquirida de Sigma-Aldrich) se mezcló con una cantidad apropiada de una solución de DMSO 0,5% para obtener una solución de quercetina. La solución de quercetina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar un medio de cultivo celular con quercetina que contiene 50 ppm de quercetina en donde la proporción en volumen entre la solución de quercetina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con sinefrina: La sinefrina (adquirida de Sigma-Aldrich) se mezcló con una cantidad apropiada de una solución de DMSO 0,5% para obtener

una solución de sinefrina. La solución de sinefrina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar un medio de cultivo celular con sinefrina que contiene 50 ppm de sinefrina en donde la proporción en volumen entre la solución de sinefrina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

Medio de cultivo celular con complejo de curcumina-puerarina: La curcumina y puerarina se mezclaron con una cantidad apropiada de solución de DMSO 0,5% para obtener una solución del complejo de curcumina-puerarina. En donde la proporción en peso entre la curcumina y puerarina fue de 2:3. La solución del complejo de curcumina-puerarina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-puerarina que contiene 50 ppm del medicamento del complejo de curcumina-puerarina en donde la concentración de curcumina fue de 20 ppm, la concentración de puerarina fue de 30 ppm y la proporción en volumen entre la solución del complejo de curcumina-puerarina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con complejo de curcumina-quercetina: La curcumina y quercetina se mezclaron con una cantidad apropiada de solución de DMSO 0,5% para obtener una solución del complejo de curcumina-quercetina. En donde la proporción en peso entre la curcumina y quercetina fue de 2:3. La solución del complejo de curcumina-quercetina

se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-quercetina que contiene 50 ppm del medicamento del complejo de curcumina-quercetina, en donde la concentración de curcumina fue de 20 ppm, la concentración de quercetina fue de 30 ppm y la proporción en volumen entre la solución del complejo de curcumina-quercetina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con complejo de curcumina-sinefrina: La curcumina y sinefrina se mezclaron con una cantidad apropiada de solución de DMSO 0,5% para obtener una solución del complejo de curcumina-sinefrina. En donde la proporción en peso entre la curcumina y sinefrina fue de 2:3. La solución del complejo de curcumina-sinefrina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-sinefrina que contiene 50 ppm del medicamento del complejo de curcumina-sinefrina, en donde la concentración de curcumina fue de 20 ppm, la concentración de sinefrina fue de 30 ppm y la relación en volumen entre la solución del complejo de curcumina-sinefrina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

Procedimiento experimental para determinar la eficacia de la lipólisis en adipocitos maduros

Se incubaron células 3T3-L1 precursores de

adipocitos (adquiridas de Food Industry Research and Development Institute, Taiwán; abreviado como BCRC) en placas de 12 pozos de manera que cada pozo contiene 1×10^5 células. Después de dos días de cultivo las células se cultivaron durante otros dos días en un medio de inducción de diferenciación celular (medio DMI, en donde contiene $0,5 \mu\text{M}$ de IBMX (adquirido de Sigma-Aldrich), $0,1 \mu\text{M}$ de dexametasona (adquirido de Sigma-Aldrich) y $5 \mu\text{g/ml}$ de insulina (adquirida de Humulin R.)). Después, las células se cultivaron en un medio que contiene $5 \mu\text{g/ml}$ de insulina. Una vez que la morfología de las células cambió de la forma en uso a una forma esférica y muchas gotas de lípidos se acumularon en las células, esto indica que las células se han diferenciado en los adipocitos maduros.

Los adipocitos maduros se asignaron en 8 grupos los cuales fueron un grupo control con DMSO, un grupo con curcumina, un grupo con puerarina, un grupo con quercetina, un grupo con sinefrina, un grupo con el complejo de curcumina-puerarina, un grupo con el complejo de curcumina-quercetina y un grupo con el complejo de curcumina-sinefrina.

Los adipocitos maduros en el grupo control DMSO, el grupo con curcumina, el grupo con puerarina, el grupo con quercetina, el grupo con sinefrina, el grupo con el complejo de curcumina-puerarina, el grupo con el complejo de

curcumina-quercetina y el grupo con el complejo de curcumina-sinefrina se cultivaron respectivamente, con el medio de cultivo de células del grupo control DMSO, el medio de cultivo celular con curcumina, el medio de cultivo celular con puerarina, el medio de cultivo celular con quercetina, el medio de cultivo celular con sinefrina, el medio de cultivo celular con complejo de curcumina-puerarina, el medio de cultivo celular con complejo de curcumina-quercetina y el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-sinefrina durante 24 horas.

Se mezclaron proteína anexina V (adquirida de eBioscience) y yoduro de propidio (PI; adquirido de eBioscience) con las células en cada grupo por un período de tiempo y después el porcentaje de células marcadas por la proteína anexina V y por PI en cada grupo se analizó mediante citometría de flujo para determinar el porcentaje de adipocitos maduros que experimentaron apoptosis. En donde, cuando un adipocito maduro es marcado tanto con proteína anexina V como con PI, esto indica que la célula ha experimentado apoptosis. Cuando los adipocitos más maduros están experimentando apoptosis, esto indica que la eficacia de lipólisis del medicamento administrado es mejor y también indica que la lipólisis es mediada a través de apoptosis pero no por necrosis.

Los datos se presentan en Media $\pm$ SD (siglas en

inglés para Desviación Estándar) y se analizan por ANOVA de una vía. Los resultados estadísticos se muestran como símbolos o letras. Símbolos o letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) y
5 símbolos o letras idénticas indican que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$).

Debido a que la dosificación total del medicamento administrado en cada grupo fue de 50 ppm, la eficacia de apoptosis del grupo con complejo de curcumina-puerarina se
10 debe encontrar entre la eficacia del grupo con curcumina y del grupo con puerarina. Si la eficacia de apoptosis del grupo con complejo de curcumina-puerarina es mejor que el del grupo con curcumina y del grupo con puerarina, esto indica que la curcumina y la puerarina en el grupo del complejo de
15 curcumina-puerarina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis. De manera similar, la eficacia de apoptosis del grupo del complejo de curcumina-quercetina se debe encontrar entre la eficacia del grupo con curcumina y del grupo con quercetina. Si la eficacia de apoptosis del grupo del
20 complejo de curcumina-quercetina es mejor que el del grupo con curcumina y del grupo con quercetina, esto indica que la curcumina y la quercetina en el grupo del complejo de curcumina-quercetina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis. La eficacia de apoptosis del grupo del complejo de
25 curcumina-sinefrina se debe encontrar entre la eficacia del

grupo con curcumina y del grupo con sinefrina. Si la eficacia de apoptosis del grupo del complejo con curcumina-sinefrina es mejor que el del grupo con curcumina y del grupo con sinefrina, esto indica que la curcumina y la sinefrina en el grupo del complejo de curcumina-sinefrina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis.

Consulte la figura 10. La figura 10 es una gráfica de barras que muestra los efectos de las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico sobre la promoción de apoptosis de los adipocitos maduros.

Los resultados en la figura 10 muestran que el porcentaje de células apoptósicas del grupo control con DMSO fue de $0,8 \pm 0,2\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo tratado con curcumina fue de $78,4 \pm 5,4\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo con puerarina fue de $2,0 \pm 1,6\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo con quercetina fue de $1,8 \pm 0,6\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo con sinefrina fue de $0,9 \pm 0,2\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo con complejo de curcumina-puerarina fue de $80,0 \pm 5,9\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo con complejo de curcumina-quercetina fue de $80,4 \pm 7,0\%$ y el porcentaje de células apoptósicas del grupo con complejo de curcumina-sinefrina fue de $80,8 \pm 4,8\%$.

La comparación entre la eficacia de apoptosis del grupo con curcumina, el grupo con puerarina y el grupo con el complejo de curcumina-puerarina demuestra que curcumina y puerarina en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-puerarina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis.

La comparación entre la eficacia de apoptosis del grupo con curcumina, el grupo con quercetina y el grupo con el complejo de curcumina-quercetina demuestra que curcumina y quercetina en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-quercetina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis.

La comparación entre la eficacia de apoptosis del grupo con curcumina, el grupo con sinefrina y el grupo con el complejo de curcumina-sinefrina demuestra que curcumina y sinefrina en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-quercetina manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis.

Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas complejas formadas por curcumina y diversos medicamentos lipofílicos pueden todas alcanzar el efecto de la lipólisis y existen sinergias entre curcumina y diversos medicamentos lipofílicos en la eficacia de la lipólisis. Por lo tanto, la presente invención utiliza curcumina y diversos medicamentos lipofílicos para preparar micelas que contienen medicamento y

micelas que contienen un segundo medicamento lipofílico, y además prepara las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico, los cuales son las composiciones farmacéuticas capaces de ser utilizadas para lipólisis localizada y reducción de peso.

La presente invención proporciona un primer método de preparación para preparar una composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico, y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico comprende micelas que contienen medicamento y micelas que contienen un segundo medicamento lipofílico; el procedimiento de la primera preparación para preparar la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico es la siguiente:

(A) Pasos para preparar el submontaje micelar que contiene el medicamento, para preparar el submontaje micelar que contiene el medicamento;

(B) Pasos para preparar un segundo submontaje micelar que contiene el medicamento lipofílico, para preparar el submontaje micelar que contiene el segundo medicamento lipofílico; y

(C) Mezclando el submontaje micelar que contiene el medicamento con un submontaje micelar que contiene un segundo medicamento lipofílico, para preparar la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento

lipofílico.

En donde el paso (A) para preparar el submontaje micelar que contiene el medicamento comprende de los siguientes pasos (a2) ~ (d2)

5 (a2) Mezclando curcumina con un primer disolvente y agitar a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disuelva completamente;

(b2) Agregando un primer tensioactivo farmacéuticamente aceptable, y agitar bien a 100 ~ 300 rpm
10 para volatilizar el primer disolvente, en donde el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del primer tensioactivo es mayor de 10;

(c2) Después de que el primer disolvente se volatiliza completamente, obtener las micelas que contienen
15 el medicamento; y

(d2) Filtrar a través de un filtro de 0,2 μm y la solución filtrada es el submontaje micelar que contiene el medicamento que comprende micelas que contienen el medicamento.

20 Además, el paso (B) para preparar el submontaje micelar que contiene un segundo medicamento lipofílico comprende los siguientes pasos (a3) ~ (d3):

(a3) Mezclando un segundo medicamento lipofílico con un segundo disolvente y agitar a 200 ~ 500 rpm a
25 temperatura ambiente hasta que el segundo medicamento

lipofílico se disuelva completamente;

(b3) Agregando un segundo tensioactivo farmacéuticamente aceptable, y agitar bien a 100 ~ 300 rpm para volatilizar el segundo disolvente, en donde el valor del
5 equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del segundo tensioactivo es mayor de 10;

(c3) Después de que el segundo disolvente se volatiliza completamente, obtener las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico; y

10 (d3) Filtrar a través de un filtro de 0,2 μm y la solución filtrada es el submontaje micelar que contiene el segundo medicamento lipofílico que comprende micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico.

En donde el paso (c2) la micela que contiene el
15 medicamento es una microestructura formada por un tensioactivo y la curcumina está encapsulada en la micela que contiene el medicamento. En el paso (c3), la micela que contiene el segundo medicamento lipofílico es una microestructura conformada por el segundo tensioactivo y el
20 segundo medicamento lipofílico está encapsulado en la micela que contiene el segundo medicamento lipofílico.

Preferiblemente, el procedimiento de operación del paso (c2) es: Después de que el primer disolvente se volatiliza completamente, agregue lentamente una solución acuosa
25 farmacéuticamente aceptable y mezcle bien para formar micelas

que contienen el medicamento.

Preferiblemente, el procedimiento de operación del paso (c3) es: Después de que el segundo disolvente se volatiliza completamente, agregue lentamente una solución acuosa farmacéuticamente aceptable y mezcle bien para formar las micelas que contienen el segundo medicamento lipofílico.

Preferiblemente, el segundo medicamento lipofílico es por lo menos uno de quercetina, sinefrina, puerarina, resveratrol y cualquier medicamento lipofílico excepto curcumina, o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en el paso (a2) y/o en el paso (a3), uno o varios puntos de ebullición del primer disolvente y/o del segundo disolvente son menores que los puntos de ebullición del agua pura.

Preferiblemente, en el paso (a2) y/o en el paso (a3), el primer disolvente y/o el segundo disolvente es un disolvente hidrofílico.

Preferiblemente, el disolvente hidrofílico es por lo menos uno de metanol, etanol, acetona y otros disolventes hidrofílicos, o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en el paso (a2) y/o en el paso (a3), el primer disolvente y/o el segundo disolvente son disolventes lipofílicos.

Preferiblemente, el disolvente lipofílico (hidrofóbico) es por lo menos uno de éter, benceno,

cloroformo, diclorometano, hexano y otros disolventes lipofílicos (hidrofóbicos) o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en los pasos (b2) y/o (b3), el primer tensioactivo y/o el segundo tensioactivo son un
5 tensioactivo no iónico.

Preferiblemente, el tensioactivo no iónico es por lo menos uno de ~~poliserbate~~polisorbato 80 (Tween 80), 12-hidroxi octadecanoato de 2-hidroxietilo (solutol HS15), derivados de aceite de ricino polioxietileno y otros
10 tensioactivos no iónicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino polioxietileno es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH40 y otros derivados del aceite de ricino polioxietileno o una
15 combinación de los mismos.

Preferiblemente, la proporción en peso de curcumina respecto al segundo medicamento lipofílico fue de 30:1 ~ 1:10.

Preferiblemente, en los pasos (a2) y (b2), la
20 proporción en peso de la curcumina y el primer tensioactivo fue de 1:4 a 1:500.

Preferiblemente, en los pasos (a3) y (b3), la proporción en peso del segundo medicamento lipofílico y el segundo tensioactivo fue de 1:4 a 1:500.

25 Preferiblemente, en los pasos (c2) y/o (c3), la

solución acuosa farmacéuticamente aceptable es agua para inyección, solución acuosa para inyección o solución salina normal.

Preferiblemente, en los pasos (c2) y/o (c3), la
5 solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende un anestésico local.

Preferiblemente, el anestésico local es por lo menos uno de amidas, ésteres de ácido para-aminobenzoico y aminoéteres o una combinación de los mismos.

10 Preferiblemente, las amidas son por lo menos uno de dibucaína, lidocaína, clorhidrato de mepivacaína, clorhidrato de bupivacaína, clorhidrato de pirrocaína, clorhidrato de prilocaína, digammacaína y oxetazaina o una combinación de los mismos.

15 Preferiblemente, los ésteres de ácido para aminobenzoico son por lo menos uno de butacaína, dimetocaína y tutocaína o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, los aminoéteres son por lo menos uno de quinisocaína y pramocaína o una combinación de los
20 mismos.

Preferiblemente, en los pasos (c2) y/o (c3) la solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende un antioxidante.

Preferiblemente, el antioxidante es por lo menos
25 uno de beta-caroteno, luteína, licopeno, bilirrubina,

vitamina A, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E, ácido úrico, óxido nítrico, nitróxido, piruvato, catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasas, N-acetilcisteína y naringenina o una combinación de los mismos.

5 La presente invención proporciona una segunda preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico, y el segundo método de preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico es más conciso que el
10 primer método de preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico; para la producción del segundo método de preparación para la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico es la siguiente:

15 (a4) Mezclando curcumina, el segundo medicamento lipofílico y un disolvente, y agitar a 200 ~ 500 rpm hasta que la curcumina se disuelva completamente;

 (b4) Agregando un tensioactivo farmacéuticamente aceptable, y agitar bien a 100 ~ 300 rpm para volatilizar el
20 disolvente, en donde el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo es mayor de 10;

 (c4) Una vez que el disolvente se volatiliza completamente, agregando lentamente una solución acuosa
25 farmacéuticamente aceptable y mezclando bien para formar

micelas que contengan el medicamento y las micelas que contengan el segundo medicamento lipofílico; y

(d4) Filtrando a través de un filtro de 0,2 μm y almacenando la solución filtrada que comprende micelas que contienen el medicamento y las micelas que contienen el
5 segundo medicamento lipofílico en la oscuridad y la refrigeración.

Los tipos e intervalos de los disolventes, los tensioactivos, las soluciones acuosas farmacéuticamente
10 aceptables y los segundos medicamentos lipofílicos utilizados en la segunda preparación para la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico son los mismos que aquellos utilizados en la primera preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro
15 medicamento lipofílico. Adicionalmente, los intervalos de las relaciones relativas de los ingredientes utilizados en la segunda preparación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico son los mismos que aquellos de la primera preparación de la
20 composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico.

Preferiblemente, la composición farmacéutica comprende un anestésico local y/o un antioxidante.

Preferiblemente, los tipos e intervalos de los
25 anestésicos locales y los antioxidantes de la segunda

preparación de la composición farmacéutica del complejo curcumina-otro medicamento lipofílico son las mismas que aquellas utilizadas en la primera preparación de la composición farmacéutica del complejo curcumina-otro medicamento lipofílico.

Experimento 9: Efectos de la formulación de inyección subcutánea del complejo curcumina-extracto de té verde en la grasa subcutánea de las ratas.

Experimento 9-1: Efectos de la formulación de inyección subcutánea simple de extracto de té verde en la grasa subcutánea de las ratas.

Preparación de la formulación de inyección subcutánea de extracto de té verde:

El extracto de té verde se mezcló con una cantidad apropiada de solución salina normal para inyección con el fin de obtener una formulación de inyección subcutánea de extracto de té verde.

A las ratas se les asignaron en un grupo control con una dieta alta en grasa y un grupo con extracto de té verde, con seis ratas en cada grupo. Las ratas fueron alimentadas de la misma manera descrita en el experimento 2. La formulación de inyección subcutánea de extracto de té verde fue inyectada en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior en el grupo de extracto de té verde. Cada dosificación inyectada fue de 8 mg de extracto de té verde

por kilogramo de peso corporal (8 mg/kg). Las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa se les inyectó con el mismo volumen de agua para inyección de la misma manera descrita en lo anterior.

5 Los sitios de inyección mencionados en lo anterior fueron las almohadillas de grasa inguinal inferior de las ratas. Se administraron inyecciones bilaterales uniformemente una vez al día los días 1, 3 y 5 del experimento. A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasas durante toda la
10 duración del experimento. Sus cambios de peso se registraron diariamente y el consumo de alimento y agua se registró semanalmente. El experimento duró 20 días, y las ratas fueron sacrificadas en el día 21 con CO₂.

 Consulte la figura 11. La figura 11 es una gráfica
15 de barras que muestran los efectos de la formulación de inyección subcutánea de extracto de té verde sin excipiente en la grasa subcutánea localizada de las ratas.

 Los resultados en la figura 11 muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las
20 ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de $100,00 \pm 21,51\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de extracto de té verde fue de $99,50 \pm 13,14\%$. No hubo diferencia significativa entre el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal
25 inferior de las ratas en el grupo de extracto de té verde y

el de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa, lo que indica que una composición de extracto de planta hidrofílica - extracto de té verde, sin excipiente, no puede reducir la grasa en el sitio de administración (grasa
5 localizada).

Experimento 9-2: Efecto de la frecuencia de dosificación en la grasa subcutánea y el peso corporal de las ratas

En este experimento, a las ratas en cada grupo se
10 les administró con una cantidad igual de dosificación inyectada total de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde pero con una frecuencia de dosificación diferente para determinar los efectos de la frecuencia de dosificación en la grasa subcutánea y el peso
15 corporal de las ratas. En este experimento, a las otras ratas se les administró con el ingrediente principal de una formulación de inyección de la lipólisis local disponible en el mercado para comparar simultáneamente los efectos de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto
20 de té verde de la presente invención y la formulación de inyección de la lipólisis local en el mercado en la grasa subcutánea y el peso corporal de las ratas.

Se preparó una solución de desoxicolato sódico y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto
25 de té verde de la siguiente manera:

Preparación de la solución de desoxicolato sódico:
Igual que la preparación de la solución de desoxicolato sódico en el experimento 7-4.

Preparación de la composición farmacéutica del
5 complejo de curcumina-extracto de té verde: Se mezclaron 0,8 g de curcumina con 150 ~ 200 ml de diclorometano y se agitó a 150 ~ 500 rpm para disolver completamente la curcumina. Se agregaron 40 g de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP, abreviado como ELP) y se agitó a 100 ~ 300 rpm
10 para volatilizar diclorometano. Una vez que el diclorometano ha sido volatilizado completamente, se agregó lentamente la solución salina normal para inyección hasta un volumen total de 200 ml. En donde la solución salina normal para inyección comprende 0,2 g de extracto de té verde. La solución se
15 mezcló bien para obtener la solución del complejo de curcumina-extracto de té verde que comprende ELP. La solución del complejo de curcumina-extracto de té verde que comprende ELP comprendida de micelas que contienen el medicamento, la concentración total de curcumina y de té verde fue de 5
20 mg/ml, y la proporción en peso de curcumina y extracto de té verde fue de 4:1.

Las ratas fueron asignadas aleatoriamente en 4 grupos, los cuales fueron un grupo control con una dieta alta en grasa, un grupo de desoxicolato sódico, un grupo de
25 extracto de curcumina-té verde con una frecuencia de

dosificación alta (abreviado como grupo de frecuencia con dosificación alta en este experimento) y un grupo de curcumina-extracto de té verde con frecuencia de dosificación baja (abreviado como grupo de frecuencia con dosificación 5 baja). Las ratas fueron alimentadas de la misma manera a lo descrito en el experimento 2.

Los medicamentos se administraron de la siguiente manera:

Grupo de desoxicolato sódico: La solución de 10 desoxicolato sódico se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de desoxicolato sódico. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 10,3 mg/kg (10,3 mg/kg; cálculo: 2,575 mg/ml 15 $\times$ 4 ml/kg = 10,3 mg/kg). A las ratas se les inyectó una vez al día en el día 1, 3 y 5 del experimento, con 3 inyecciones en total de manera que la dosificación total fue de 30,9 mg/kg (10,3 mg/kg $\times$ 3 veces = 30,9 mg/kg).

Grupo de frecuencia con dosificación alta: 20 La composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación alta. Cada volumen de inyección fue de 4 ml por kilogramo de peso corporal (4 ml/kg) de 25 manera que cada dosificación inyectada fue de 20 mg/kg (20

mg/kg; cálculo: $5 \text{ mg/ml} \times 4 \text{ ml/kg} = 20 \text{ mg/kg}$). A las ratas se les inyectó una vez al día en el día 1, 3, 5, 7, 9 y 11 del experimento, con 6 inyecciones en total de manera que la dosificación total fue de 120 mg/kg ($20 \text{ mg/kg} \times 6 \text{ veces} =$
5 120 mg/kg).

Grupo de frecuencia con dosificación baja:
La composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde se inyectó en la capa de grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de
10 frecuencia con dosificación baja. Cada volumen de inyección fue de 8 ml por kilogramo de peso corporal (8 ml/kg) de manera que cada dosificación inyectada fue de 40 mg/kg (40 mg/kg ; cálculo: $5 \text{ mg/ml} \times 8 \text{ ml/kg} = 40 \text{ mg/kg}$). A las ratas se les inyectó una vez al día en el día 1, 3 y 5 del
15 experimento, con 3 inyecciones en total de manera que la dosificación total fue de 120 mg/kg ($40 \text{ mg/kg} \times 3 \text{ veces} = 120 \text{ mg/kg}$).

Grupo control con una dieta alta en grasa: A las ratas se les inyectó con agua para inyección de la misma
20 manera a lo descrito en lo anterior.

A las ratas se les alimentó con una dieta alta en grasa durante toda la duración del experimento. El experimento duró 20 días y las ratas fueron sacrificadas en el día 21 con CO_2 .

25 Consulte la figura 12A y la figura 12B. La figura

12A es una gráfica de barras que muestra los efectos de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde en la grasa subcutánea localizada de las ratas. La figura 12B es una gráfica de barras que muestra el efecto de la frecuencia de dosificación de la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde sobre las ganancias de peso corporal total de las ratas.

Los resultados en la figura 12A muestran que el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de $100,0 \pm 22,6\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de desoxicolato sódico fue de $88,8 \pm 16,7\%$, el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo con una frecuencia de dosificación alta fue de $57,6 \pm 7,4\%$ y el peso relativo de la grasa subcutánea inguinal inferior de las ratas en el grupo de frecuencia con dosificación baja fue de $60,7 \pm 4,0\%$.

Al comparar con el grupo de control con una dieta alta en grasa, tanto el grupo con una frecuencia de dosificación alta como el grupo con frecuencia de dosificación baja reducen de modo significativo la grasa en el sitio de administración (grasa localizada) ($p < 0.05$). De esta manera, si la concentración de la composición

farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde es suficiente, la frecuencia de dosificación baja puede alcanzar el efecto de la lipólisis local.

En comparación con el grupo de frecuencia con dosificación baja, el efecto de la lipólisis del grupo de frecuencia con dosificación alta es mejor. Aunque no hubo una diferencia significativa entre la frecuencia de dosificación alta y la frecuencia de dosificación baja, la frecuencia de dosificación alta puede alcanzar una mejor tendencia de efecto de la lipólisis local.

Los resultados de la figura 12B muestran que las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa fue de $100,0 \pm 11,6\%$, las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo con desoxicolato sódico fue de $100,2 \pm 12,6\%$, las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo con frecuencia de dosificación alta fue de $58,7 \pm 9,0\%$ y las ganancias de peso relativo de las ratas en el grupo con una frecuencia de dosificación baja fue de $74,9 \pm 9,0\%$. En comparación con las ganancias de peso relativa de las ratas en el grupo control con una dieta alta en grasa, las ganancias de peso relativo de las ratas en ambos, el grupo con una frecuencia de dosificación baja y el grupo con una frecuencia de dosificación alta disminuyeron de manera significativa ($p < 0.05$), y las ganancias en peso relativo se redujo en un 25,1%

y 41,3%, respectivamente, demostrando que el efecto de la pérdida de peso es muy significativo.

Por lo tanto, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde de la presente
5 invención puede reducir de manera significativa el peso corporal y la eficacia de pérdida de peso de la frecuencia de dosificación alta es significativamente mejor que la de la frecuencia de dosificación baja ($p < 0.05$).

En base a las experiencias del inventor, cuando la
10 frecuencia de dosificación adecuada para las ratas es de 3 ~ 6 veces, la frecuencia de dosificación adecuada para los humanos es de 1 ~ 12 veces. Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 1 ~ 6 veces.

Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para
15 los humanos es de 1 ~ 12 veces cada tercer día hasta cada 30 días. Preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 1 ~ 6 veces cada tercer día hasta cada 30 días o, preferiblemente, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 3 ~ 60 veces cada tercer día hasta cada 20
20 días; de manera preferible, la frecuencia de dosificación para los humanos es de 6 ~ 42 veces cada tercer día a cada 14 días.

Experimento 10: Efectos de las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina sobre la lipólisis

25 Se utilizaron en este experimento curcumina y

medicamentos hidrofílicos excepto extracto de té verde para preparar composiciones farmacéuticas complejas para determinar la eficacia de la lipólisis de diversas composiciones farmacéuticas complejas hidrofílicas en
5 adipocitos maduros.

Este experimento utiliza cafeína y L-carnitina para preparar diversas composiciones farmacéuticas de complejo hidrofílicas.

Experimento 10-1: Prueba de citotoxicidad

10 Se determina si 50 ppm de cafeína y L-carnitina tienen toxicidad para las células distintas de los adipocitos mediante el ensayo MTT. Únicamente si el medicamento se considera no tóxico se procederá a la prueba de la lipólisis.

15 Los resultados experimentales muestran que 50 ppm de cafeína y L-carnitina no son tóxicos en las células somáticas de la rata excepto adipocitos, de manera que la dosificación no afectará a las células somáticas en general.

Experimento 10-2: Eficacia de la lipólisis en adipocitos maduros.

20 Se prepararon un medio de cultivo celular de grupo control con agua estéril, un medio de cultivo celular con curcumina, un medio de cultivo celular con cafeína, un medio de cultivo celular con L-carnitina, un medio de cultivo celular con complejo de curcumina-cafeína y un medio de
25 cultivo celular con complejo de curcumina-L-carnitina de la

siguiente manera:

El medio de cultivo celular del grupo control con agua estéril: Se mezcló con agua estéril con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular del grupo control con agua estéril. En donde la proporción en volumen del agua estéril y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con curcumina: igual que la preparación del medio de cultivo celular con curcumina en el experimento 8-2.

El medio de cultivo celular con cafeína: Se mezcló cafeína (adquirida de Sigma-Aldrich) con una cantidad apropiada de agua estéril para obtener una solución de cafeína. La solución de cafeína se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar un medio de cultivo celular con cafeína que contiene 50 ppm de cafeína. En donde la proporción en volumen del medio de cultivo celular con cafeína y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con L-carnitina: Se mezcló L-carnitina (adquirida de Sigma-Aldrich) con una cantidad apropiada de agua estéril para obtener una solución de L-carnitina. La solución de L-carnitina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular con cafeína que contiene 50 ppm de L-carnitina. En donde la proporción en volumen del medio de cultivo

celular con L-carnitina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

El medio de cultivo celular con complejo de curcumina-cafeína: Se mezclaron curcumina y cafeína con una
5 cantidad apropiada de agua estéril para preparar una solución compleja de curcumina-cafeína. En donde la proporción en peso de curcumina y cafeína fue de 2:3. La solución del complejo de curcumina-cafeína se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular complejo de
10 curcumina-cafeína que contiene 50 ppm del medicamento del complejo de curcumina-cafeína. En donde la concentración de curcumina fue de 20 ppm, la concentración de cafeína fue de 30 ppm y la proporción en volumen de la solución del complejo de curcumina-cafeína y el medio de cultivo celular fue de
15 1:1000.

El medio de cultivo celular del complejo de curcumina-L-carnitina: Se mezclaron curcumina y L-carnitina con una cantidad apropiada de agua estéril para preparar una solución del complejo de curcumina-L-carnitina. En donde la
20 proporción en peso de curcumina y L-carnitina fue de 2:3. La solución del complejo de curcumina-L-carnitina se mezcló con un medio de cultivo celular para preparar el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-L-carnitina que contiene 50 ppm del medicamento del complejo de curcumina-L-
25 carnitina. En donde la concentración de curcumina fue de

20 ppm, la concentración de L-carnitina fue de 30 ppm y la proporción en volumen de la solución del complejo de curcumina-L-carnitina y el medio de cultivo celular fue de 1:1000.

5 La preparación de los adipocitos maduros fue la misma que la del experimento 8-2.

 Los adipocitos fueron asignados en 6 grupos, los cuales son un grupo con agua estéril, un grupo con curcumina, un grupo con cafeína, un grupo con L-carnitina, un grupo con
10 el complejo de curcumina-cafeína y un grupo con el complejo de curcumina-L-carnitina.

 Los adipocitos maduros en el grupo de agua estéril, el grupo con curcumina, el grupo con cafeína, el grupo con L-carnitina, el grupo con el complejo de curcumina-cafeína y
15 el grupo con el complejo de curcumina-L-carnitina se cultivaron con el medio de cultivo celular del grupo control de agua estéril, el medio de cultivo celular de curcumina, el medio de cultivo celular de cafeína, el medio de cultivo celular de L-carnitina, el medio de cultivo celular del
20 complejo curcumina-cafeína, y el medio de cultivo celular del complejo de curcumina-L-carnitina, respectivamente, durante 24 horas.

 Se mezclaron proteína anexina V (adquirida de eBioscience) y yoduro de propidio (PI; adquirido de
25 eBioscience) con las células en cada grupo por un período de

tiempo y después el porcentaje de células marcadas por la proteína anexina V y por PI en cada grupo se analizó mediante citometría de flujo para determinar el porcentaje de adipocitos maduros que están experimentando apoptosis.

5 En donde, cuando un adipocito maduro es marcado tanto por proteína anexina V como por PI, esto indica que la célula está experimentando apoptosis. Cuando los adipocitos más maduros están experimentando apoptosis, esto indica que la eficacia de la lipólisis del medicamento administrado es
10 mejor y también indica que la lipólisis es mediada a través de apoptosis pero no por necrosis.

Debido a que la dosificación total del medicamento administrado fue de 50 ppm, y 40% fue curcumina y 60% fue cafeína, por lo tanto, la eficacia de la lipólisis del grupo
15 de complejo de curcumina-cafeína debería ser cercana al promedio del grupo de curcumina y el grupo de cafeína. Si la eficacia de la lipólisis del grupo del complejo de curcumina-cafeína es significativamente mejor que el promedio del grupo de curcumina y del grupo de cafeína, esto indica que la
20 curcumina y la cafeína en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-cafeína manifiesta sinergia. De manera similar, debido a que la dosificación total del medicamento administrado fue de 50 ppm y 40% fue curcumina y 60% fue L-carnitina, por lo tanto, la eficacia de la lipólisis del
25 grupo del complejo de curcumina-L-carnitina debería ser

cercana al promedio del grupo de curcumina y el grupo de cafeína. Si la eficacia de lipólisis del grupo del complejo de curcumina-L-carnitina es significativamente mejor que el promedio del grupo de curcumina y del grupo de L-carnitina, esto indica que la curcumina y la L-carnitina en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-L-carnitina manifiesta sinergia.

Consulte la figura 13. La figura 13 es una gráfica de barras que muestra los efectos de las composiciones farmacéuticas del complejo de curcumina-otro medicamento hidrofílico para promover la apoptosis de los adipocitos maduros.

Los resultados en la figura 13 muestran que el porcentaje de células apoptósicas del grupo control con agua estéril fue de $0,8 \pm 0,4\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo de curcumina fue de $78,4 \pm 5,4\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo de cafeína fue de $2,0 \pm 1,7\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo de L-carnitina fue de $1,7 \pm 0,5\%$, el porcentaje de células apoptósicas del grupo del complejo de curcumina-cafeína fue de $69,3 \pm 4,5\%$ y el porcentaje de células apoptósicas del grupo del complejo de curcumina-L-cafeína fue de $74,1 \pm 10,2\%$.

La comparación entre la eficacia de apoptosis del grupo de curcumina, el grupo de cafeína y el grupo del

complejo de curcumina-cafeína demuestra que la curcumina y cafeína en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-cafeína manifiesta sinergia en la eficacia de la lipólisis.

5 La comparación entre la eficacia de apoptosis del grupo de curcumina, el grupo de L-carnitina y el grupo del complejo de curcumina-L-carnitina demuestra que la curcumina y la L-carnitina en la composición farmacéutica del complejo de curcumina-cafeína manifiesta sinergia en la eficacia de la
10 lipólisis.

 Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas del complejo formadas por curcumina y diversos medicamentos hidrofílicos pueden todas alcanzar el efecto de la lipólisis y existen sinergias entre curcumina y diversos medicamentos
15 hidrofílicos en los efectos de la lipólisis. Por lo tanto, la presente invención utiliza curcumina y diversos medicamentos hidrofílicos para preparar micelas que contienen medicamento y micelas que contienen un segundo medicamento lipofílico, y además prepara composiciones farmacéuticas del complejo de
20 curcumina-otro medicamento hidrofílico, los cuales son las composiciones farmacéuticas capaces de ser utilizadas para la lipólisis localizada y reducción de peso.

 La presente invención proporciona una preparación para una composición farmacéutica del complejo de
25 curcumina-medicamento hidrofílico y de la composición

farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico comprende micelas que contienen medicamento y un medicamento hidrofílico; el procedimiento para preparar la composición farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico de la siguiente manera:

(a5) Mezclando curcumina con un disolvente y agitar a 150 ~ 500 rpm a temperatura ambiente hasta que la curcumina se disuelva completamente;

(b5) Agregando un tensioactivo farmacéuticamente aceptable y agitar bien a 100 ~ 300 rpm para volatilizar el disolvente, en donde el valor del equilibrio hidrofílico-lipofílico (valor HLB, por sus siglas en inglés) del tensioactivo es mayor de 10;

(c5) Una vez que el disolvente se volatiliza por completo, agregue lentamente una primera solución acuosa farmacéuticamente aceptable y agite bien a 100 ~ 300 rpm para formar micelas que contienen medicamento; y

(d5) Filtrando a través de un filtro de 0,2 μm y almacenando la solución filtrada que comprende micelas que contienen medicamento en la oscuridad y la refrigeración.

En donde la primera solución acuosa farmacéuticamente aceptable comprende de un medicamento hidrofílico.

Preferiblemente, la primera composición farmacéutica comprende un anestésico local.

Preferiblemente, el anestésico local es por lo menos uno de amidas, ésteres de ácido para-aminobenzoico y aminoéteres o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, las amidas son por lo menos uno de
5 dibucaína, lidocaína, mepivacaína HCl, bupivacaína HCl, pirrocaína HCl, prilocaína HCl, digammacaína y oxetazaina o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, los ésteres de ácido para aminobenzoico son por lo menos uno de butacaína, dimetocaína
10 y tutocaína o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, los aminoésteres son por lo menos uno de quinisocaína, y pramocaína o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, la primera solución acuosa
15 farmacéuticamente aceptable comprende un antioxidante.

Preferiblemente, el antioxidante es por lo menos uno de beta-caroteno, luteína, licopeno, bilirrubina, vitamina A, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E, ácido úrico, óxido nítrico, nitróxido, piruvato, catalasa,
20 superóxido dismutasa, glutatión peroxidasas, N-acetilcisteína y naringenina o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en el paso (a5), el punto de ebullición del disolvente es menor que el del agua pura.

Preferiblemente, en el paso (a5) el disolvente es
25 un disolvente hidrofílico.

Preferiblemente, el disolvente hidrofílico es por lo menos uno de metanol, etanol, acetona y otros disolventes hidrofílicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el disolvente en el paso (a5) es
5 un disolvente lipofílico (hidrofóbico).

Preferiblemente, el disolvente lipofílico (hidrofóbico) es por lo menos uno de éter, benceno, cloroformo, diclorometano, hexano y otros disolventes lipofílicos (hidrofóbicos) o una combinación de los mismos.

10 Preferiblemente, en el paso (b5) el tensioactivo es un tensioactivo no iónico.

Preferiblemente, el tensioactivo no iónico es por lo menos uno de polisorbatepolisorbato 80 (Tween 80), 12-hidroxiocetadecanoato de 2-hidroxiethyl (solutol HS 15),
15 derivados de aceite de ricino polioxiethyl y otros tensioactivos no iónicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, el derivado de aceite de ricino polioxiethyl es por lo menos uno de Kolliphor ELP (también conocido como Cremophor ELP), cremophor RH 40 y otros
20 derivados de aceite de ricino polioxiethyl o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, entre los pasos (c5) y (d5), incluye adicionalmente los siguientes pasos:

(c51) Agregando una segunda solución acuosa
25 farmacéuticamente aceptable y mezclando bien para disolver

completamente la segunda solución acuosa farmacéuticamente aceptable.

Preferiblemente, el medicamento hidrofílico se disuelve en la primera solución acuosa farmacéuticamente
5 aceptable, la micela que contiene medicamento es una microestructura formada por el tensioactivo y la curcumina se encapsula en la micela que contiene el medicamento.

Preferiblemente, el medicamento hidrofílico en la primera solución acuosa farmacéuticamente aceptable es por lo
10 menos uno de extracto de té verde, galato de epigalocatequina, epicatequina, galato de epicatequina, epigalocatequina, galato de galocatequina, galocatequina, galato de catequina, catequina, galato de epigalocatequina (EGCG), cafeína, carnitina, L-carnitina, sinefrina, ácido
15 clorogénico y otros medicamentos hidrofílicos o una combinación de los mismos.

Preferiblemente, en los pasos (a5) y (c5), la proporción en peso de la curcumina y el medicamento hidrofílico es de 30:1 a 1:10.

20 Preferiblemente, en los pasos (a5)~(c5), basadas en una unidad de peso definida como el peso total de la curcumina y el medicamento hidrofílico, el peso del tensioactivo es de 0,24~70 unidades de peso; o la proporción en peso del peso total de la curcumina y el medicamento
25 hidrofílico respecto al tensioactivo es de 4:1 a 1:70.

Preferiblemente, en los pasos (a5), (c5) y (c51),
basadas en una unidad de peso definido como el peso total de
la curcumina y el medicamento hidrofílico, el peso total de
la primera solución acuosa farmacéuticamente aceptable y la
5 segunda solución acuosa farmacéuticamente aceptable es de
16~400 unidades de peso.

Preferiblemente, en los pasos (c5) y (c51), la
primera solución acuosa farmacéuticamente aceptable y la
segunda solución acuosa farmacéuticamente aceptable son agua
10 para inyección, solución acuosa para inyección o solución
salina normal.

Como se demuestra mediante los ejemplos de la
presente invención, la composición farmacéutica simple de
curcumina, la composición farmacéutica del complejo
15 curcumina-resveratrol, la composición farmacéutica del
complejo de curcumina-extracto de té verde, la composición
farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento
lipofílico, y la composición farmacéutica del complejo de
curcumina-medicamento hidrofílico proporcionados por la
20 presente invención y otras composiciones farmacéuticas
proporcionadas por la presente invención pueden reducir la
grasa localizada y pueden reducir el peso corporal. Por lo
tanto, la composición farmacéutica simple de curcumina, la
composición farmacéutica compleja de curcumina-resveratrol,
25 la composición farmacéutica compleja de curcumina-extracto de

té verde y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico así como la composición farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico proporcionadas por la presente invención y otras composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden utilizar para preparar dispositivos implantados subcutáneos, implantes subcutáneos, soluciones para infusión implantada, crema o parches los cuales son capaces de ser administrados en los sitios que requieran reducción de la grasa subcutánea mediante implantación subcutánea, infusión implantada, crema o aplicación de un parche. O bien, las composiciones farmacéuticas se pueden utilizar para preparar dispositivos implantados subcutáneos, implantes subcutáneos, soluciones para infusión implantada, crema o parches los cuales son capaces de ser administrados a un sujeto por implantación subcutánea, inyección intravenosa, infusión implantada, crema o aplicación de parche para reducir el peso corporal del sujeto.

Preferiblemente, la composición farmacéutica simple de curcumina, la composición farmacéutica del complejo curcumina-resveratrol, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico, y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico proporcionados por la

presente invención y otras composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención pueden reducir la grasa en el sitio de administración o el peso corporal mediante inyección subcutánea de grasa. De esta manera, la
5 composición farmacéutica simple de curcumina, la composición farmacéutica del complejo curcumina-resveratrol, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico y la composición
10 farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico y otras composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden utilizar para preparar una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea o una formulación de inyección subcutánea
15 para reducir la grasa subcutánea localizada.

Preferiblemente, la composición farmacéutica simple de curcumina, la composición farmacéutica del complejo curcumina-resveratrol, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde, la composición
20 farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico, y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico proporcionados por la presente invención y otras composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención pueden reducir el
25 peso corporal mediante formulación de inyección subcutánea de

grasa o inyección intravenosa. De esta manera, la composición farmacéutica simple de curcumina, la composición farmacéutica del complejo curcumina-resveratrol, la composición farmacéutica del complejo de curcumina-extracto de té verde, 5 la composición farmacéutica del complejo de curcumina-otro medicamento lipofílico y la composición farmacéutica del complejo de curcumina-medicamento hidrofílico proporcionados por la presente invención y otras composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente invención se pueden utilizar 10 para preparar una formulación de inyección de la capa de grasa subcutánea, una formulación de inyección intravenosa y una formulación de inyección subcutánea para reducir el peso corporal.

Las descripciones precedentes son simplemente las 15 modalidades preferidas de la presente invención y no se pretende que limiten el alcance de la solicitud de patente de la presente invención. Por lo tanto, cualquier alteración o modificación que no se aparte del espíritu descrito en la presente se debe considerar incluido dentro del alcance de la 20 solicitud de patente de la presente invención.