

COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA EL TRATAMIENTO DE "PLACAS Y OVILLOS" EN SERES HUMANOS Y ANIMALES

SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 62/778,875 presentada el 12 de diciembre de 2018, cuyo contenido se incorpora a la presente mediante esta referencia en su totalidad.

CAMPO TÉCNICO

[0002] La invención se refiere a composiciones mezcladas de extractos de plantas de grosella negra, *Uncaria tomentosa* y té oolong y métodos de uso de tales composiciones para tratar "placas" y "ovillos" que se acumulan en el cerebro envejecido en amiloidosis y tauopatías en humanos y animales (p. ej., como perros y gatos ancianos). Además, la invención se refiere al desarrollo de una composición mixta de productos nutracéuticos que consiste en una combinación de un extracto de grosella negra, un extracto vegetal de *Uncaria tomentosa* y un extracto de té oolong, para prevenir y tratar la lesión cerebral traumática (TBI, por sus siglas en inglés), conmociones cerebrales (como se observa en la mayoría de los atletas y los militares/soldados), golpes únicos y repetidos en la cabeza y encefalopatía traumática crónica (CTE, por sus siglas en inglés). Por último, esta invención se refiere al descubrimiento sorprendente de que las composiciones mezcladas son más solubles que las composiciones mezcladas que contienen *Uncaria tomentosa* y té oolong y no contienen extracto de grosella negra.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La amiloidosis y la acumulación de placas beta-amiloides en el cerebro de una variedad de trastorno

[0003] La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la acumulación de un péptido de 39-43 aminoácidos denominado proteína beta-amiloide o A β , en forma fibrilar, que existe como placas amiloides extracelulares y como amiloide dentro de las paredes de los vasos sanguíneos cerebrales. Se cree que el depósito de amiloide A β fibrilar en la enfermedad de Alzheimer es perjudicial para el paciente y eventualmente conduce a la toxicidad y muerte de células neuronales, un sello característico de la enfermedad de Alzheimer. La evidencia acumulada implica al amiloide, y más específicamente, la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas A β , como un factor causante principal de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, además de la enfermedad de Alzheimer, una serie de otras enfermedades amiloides implican la formación, depósito, acumulación y persistencia de fibrillas A β , incluido el síndrome de Down, trastornos que involucran angiopatía congofílica, como, entre otros, hemorragia cerebral hereditaria del tipo

holandés, miositis por cuerpos de inclusión, demencia pugilística, angiopatía β -amiloide cerebral, demencia asociada con parálisis supranuclear progresiva, demencia asociada con degeneración basal cortical y deterioro cognitivo leve.

[0004] Las enfermedades amiloides (amiloidosis) se clasifican según el tipo de proteína amiloide, así como también de la enfermedad subyacente. Las enfermedades amiloides tienen una serie de características en común que incluyen que cada amiloide consiste en un tipo único de proteína amiloide. Las enfermedades amiloides incluyen, entre otros, el amiloide asociado con la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, síndrome de disfunción canina (CDS, por sus siglas en inglés), disfunción cognitiva canina (CCD, por sus siglas en inglés), como se observa en animales de edad avanzada tales como perros y gatos, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis de tipo holandés, demencia pugilística, miositis por cuerpos de inclusión (Askanas *et al.*, *Ann. Neurol.* 43: 521-560, 1993) y deterioro cognitivo leve (donde el amiloide específico se denomina como proteína beta-amiloide o A β), el amiloide asociado con inflamación crónica, diversas formas de cáncer y fiebre mediterránea familiar (donde el amiloide específico se denomina como amiloide AA o amiloidosis asociada a inflamación), el amiloide asociado con mieloma múltiple y otras discrasias de linfocitos B (donde el amiloide específico amiloide se denomina amiloide AL), el amiloide asociado con la diabetes tipo 2 (donde el amiloide específico se denomina amilina o polipéptido amiloide de los islotes o IAPP), el amiloide asociado con las enfermedades priónicas, incluida la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el síndrome de Gerstmann-Straussler, el kuru y la tembladera animal (donde el amiloide específico se denomina amiloide PrP), el amiloide asociado con la hemodiálisis a largo plazo y el síndrome del túnel carpiano (donde el amiloide específico se denomina amiloide α 2-microglobulina), el amiloide asociado con la amiloidosis cardíaca senil y la polineuropatía amiloidótica familiar (donde el amiloide específico se denomina como transtiretina o prealbúmina), y el amiloide asociado con tumores endocrinos como el carcinoma medular de tiroides (donde el amiloide específico se denomina variantes de procalcitonina). Además, la proteína α -sinucleína que forma fibrillas de tipo amiloide y es rojo Congo y tioflavina S positiva (tinciones específicas utilizadas para detectar depósitos fibrilares de amiloide), se encuentra como parte de los cuerpos de Lewy en el cerebro de pacientes con enfermedad de Parkinson, enfermedad de cuerpos de Lewy (Lewy en Handbuch der Neurologie, M. Lewandowski, ed., Springer, Berlín, págs. 920-933, 1912; Pollanen *et al.*, *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 52: 183-191, 1993; Spillantini *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 6469-6473, 1998; Arai *et al.*, *Neurosc. Lett.* 259: 83-86, 1999), atrofia multisistémica (Wakabayashi *et al.*, *Acta Neuropath.* 96: 445-452, 1998), demencia con cuerpos de Lewy y la variante con cuerpos de Lewy de la enfermedad de Alzheimer. Para los propósitos de esta descripción, la enfermedad de Parkinson, debido al hecho de que se desarrollan fibrillas en el cerebro de pacientes con esta enfermedad (que son rojo Congo y tioflavina S positiva, y que contienen una estructura secundaria

de lámina beta plegada predominante), ahora se considera como una enfermedad que también muestra las características de una enfermedad amiloide.

Amiloide como objetivo terapéutico para la enfermedad de Alzheimer

[0005] La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por el depósito y acumulación de un péptido de 39-43 aminoácidos denominado proteína beta-amiloide, A β o β /A4 (Glennner y Wong, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 120: 885-890, 1984; Masters *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 4245-4249, 1985; Husby *et al.*, *Bull. WHO* 71: 105-108, 1993). A β se deriva por escisión por proteasa de proteínas precursoras más grandes denominadas proteínas precursoras de β -amiloide (APP) de las que existen varias variantes empalmadas alternativamente. Las formas más abundantes de las APP incluyen proteínas que constan de 696, 751 y 770 aminoácidos (Tanzi *et al.*, *Nature* 31: 528-530, 1980).

[0006] El pequeño péptido A β es un componente principal que forma los depósitos o "placas" de amiloide en el cerebro de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Además, la enfermedad de Alzheimer se caracteriza por la presencia de numerosos "ovillos" neurofibrilares, que consisten en filamentos helicoidales emparejados que se acumulan de forma anormal en el citoplasma neuronal (Grundke-Iqbal *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 4913-4917, 1986; Kosik *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 4044-4048, 1986; Lee *et al.*, *Science* 251: 675-678, 1991). El sello patológico de la enfermedad de Alzheimer es, por tanto, la presencia de "placas" y "ovillos", con amiloide depositado en el núcleo central de las placas. El otro tipo importante de lesión que se encuentra en el cerebro con la enfermedad de Alzheimer es la acumulación de amiloide en las paredes de los vasos sanguíneos, tanto dentro del parénquima cerebral como en las paredes de los vasos meníngeos que se encuentran fuera del cerebro. Los depósitos de amiloide localizados en las paredes de los vasos sanguíneos se denominan angiopatía amiloide cerebrovascular o congofílica (Mandybur, *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 45: 79-90, 1986; Pardridge *et al.*, *J. Neurochem.* 49: 1394-1401, 1987).

[0007] Durante muchos años ha habido un debate científico persistente sobre la importancia del "amiloide" en la enfermedad de Alzheimer, y si las "placas" y los "ovillos" característicos de esta enfermedad eran una causa o simplemente una consecuencia de la enfermedad. En los últimos años, los estudios indican que el amiloide es de hecho un factor causante de la enfermedad de Alzheimer y no debe considerarse como un simple espectador inofensivo. Se ha demostrado que la proteína A β de Alzheimer en cultivo celular causa la degeneración de las células nerviosas en períodos cortos de tiempo (Pike *et al.*, *Br. Res.* 563: 311-314, 1991; *J. Neurochem.* 64: 253-265, 1995). Los estudios muestran que es la estructura fibrilar (que consiste en una estructura secundaria de lámina plegada β predominante) característica de todos los amiloides la responsable de los efectos neurotóxicos. También se ha constatado que A β es neurotóxico en cultivos de cortes de hipocampo (Harrigan *et al.*, *Neurobiol. Aging* 16: 779-789, 1995) y para inducir la muerte de las

células nerviosas en ratones transgénicos (Games *et al.*, *Nature* 373: 523-527, 1995; Hsiao *et al.*, *Science* 272: 99-102, 1996). La inyección de A β de Alzheimer en el cerebro de rata también causa deterioro de la memoria y disfunción neuronal (Flood *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 3363-3366, 1991; Flood *et al.*, *Br Res.* 663: 271-276, 1994).

[0008] Probablemente, la evidencia más convincente de que el amiloide A β está directamente involucrado en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer proviene de estudios genéticos. Se descubrió que la producción de A β puede derivar de mutaciones en el gen que codifica a su precursor, la proteína precursora de β -amiloide (Van Broeckhoven *et al.*, *Science* 248: 1120-1122, 1990; Murrell *et al.*, *Science* 254: 97-99, 1991; Haass *et al.*, *Nature Med.* 1: 1291-1296, 1995). La identificación de mutaciones en el gen de la proteína precursora beta-amiloide que causa la enfermedad de Alzheimer familiar de inicio temprano es el argumento más fuerte de que el amiloide es fundamental para el proceso patogénico subyacente a esta enfermedad. Se han descubierto varias mutaciones que causan enfermedades, que demuestran la importancia de A β en la causa de la enfermedad de Alzheimer familiar (revisado en Hardy, *Nature Genet.* 1: 223-234, 1992). Todos estos estudios sugieren que proporcionar una terapia, fármaco o suplemento para reducir, eliminar y/o prevenir la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de A β fibrilar en el cerebro de humanos y animales, también puede servir como un tratamiento terapéutico eficaz.

La acumulación de "placas y ovillos" en el cerebro humano y animal envejecido

[0009] El cerebro humano es el órgano más complejo del universo. Pesa solo 3 libras, o aproximadamente el 2 % del peso corporal. Sin embargo, utiliza el 20-30 % de las calorías consumidas, el 20 % del oxígeno inhalado y el 25 % del flujo sanguíneo del cuerpo; consta de 85 % de agua (Dr. Daniel G. Amen, 12 prescriptions for creating a brain healthy life. Fuente: www.amenclinics.com/cybcyb/12-prescriptions-for-creating-a-brain-healthy-life/). Hay aproximadamente 100 mil millones de células nerviosas (es decir, neuronas) en el cerebro y hasta un billón de conexiones llamadas sinapsis (ibíd). El cerebro humano a medida que envejece pierde alrededor de 85 000 neuronas corticales por día, o alrededor de una por segundo (Dr. Deepak Chopra, y Rudolph Tanzi, Ph. D. Super Brain. Unleashing the Explosive Power of Your Mind to Maximize Health, Happiness, and Spiritual Well Being. Véase [///www.chopra.com/super-brain-by-deepak-chopra-rudolph-tanzi](http://www.chopra.com/super-brain-by-deepak-chopra-rudolph-tanzi).) A medida que el cerebro envejece, a partir de los 20 años, hay una acumulación lenta pero pausada de dos proteínas neurotóxicas. La primera es la acumulación cerebral de una proteína neurotóxica específica insoluble (total) conocida como "proteína beta-amiloide" o A β . Se ha demostrado que los depósitos de proteína beta-amiloide en forma de "placas" (que parecen "albóndigas" en el cerebro bajo un microscopio) son determinantes para matar las neuronas sanas que conducen a una disminución de la memoria y la cognición dependientes del hipocampo. El Dr. Alan Snow y los coinventores desarrollaron métodos patentados para producir

"placas en un tubo de ensayo" (idénticas a las que se ven en el cerebro humano) y utilizaron estos métodos para detectar e identificar ingredientes nutracéuticos naturales "que reducen la placa" (Patente de Estados Unidos N° 7.148.001, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad).

[0010] La segunda proteína neurotóxica que se acumula en el cerebro envejecido se conoce como la "proteína tau" y forma filamentos helicoidales emparejados retorcidos conocidos como "ovillos". Los ovillos neurofibrilares se acumulan dentro de las neuronas lo que provoca que mueran y se vean como "hebras de espagueti secas" bajo un microscopio. Los laboratorios del Dr. Snow desarrollaron métodos patentados para formar "enredos" en un tubo de ensayo, y luego utilizaron estos ensayos para identificar ingredientes nutracéuticos "inhibidores de enredos" (ver ejemplos a continuación). Por lo tanto, en el cerebro envejecido, se acumulan tanto "placas y ovillos", lo que provoca que las neuronas mueran; que las conexiones entre las células nerviosas (llamadas sinapsis) se desintegren; y la memoria y la cognición disminuyan progresivamente. Se ha demostrado que los compuestos o agentes capaces de disgregar y reducir la acumulación de "placas y ovillos" conducen a una mejora de la memoria y una reducción en el deterioro de la memoria (Karinowski *et al.* Suppression of amyloid deposition leads to long-term reductions in Alzheimer's pathologies in Tg2576 mice. *J. Neurosci.* 29: 4964-4971, 2009; Vellas *et al.* Long-term follow-up of patients immunized with AN1792: Reduced functional decline in antibody responders. *Current Alz. Res.* 6: 144-151, 2009; Morgan *et al.* A β peptide vaccination prevents memory loss in an animal model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 982-985, 2000; Chen *et al.* A learning deficit related to age and β -amyloid plaques in a mouse model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 975-979, 2000; Janus *et al.* A β peptide immunization reduces behavioral impairment and plaques in a model of Alzheimer's disease. *Nature* 408: 979-985, 2000; Schenk *et al.* Immunization with amyloid- β attenuates Alzheimer-disease like pathology in PDAPP mouse. *Nature* 400: 173-177, 1999; Yanamandra *et al.* Anti-tau antibodies that block tau aggregate seeding *in vitro* markedly decreases pathology and improves cognition *in vivo*. *Neuron* 80: 402-414, 2013; Dumont *et al.* Bezafibrate administration improves behavioral deficits and tau pathology in P3015 mice. *Human Molecular Genetics* 21: 5091-5105, 2012; Oddo *et al.* Reduction of soluble A β and tau, but not soluble A β alone, ameliorates cognitive decline in transgenic mice with plaques and tangles. *J. Biol. Chem.* 281:39413-39423, 2006; Santacruz *et al.* Tau suppression in a neurodegenerative mouse model improves memory function. *Science* 309: 476-481, 2005.)

[0011] La única diferencia entre un cerebro envejecido que podría conducir a un deterioro de la memoria asociado con la edad (AAMI, por sus siglas en inglés), luego a un deterioro cognitivo leve (MCI, por sus siglas en inglés) y potencialmente a la enfermedad de Alzheimer, y un cerebro que no lo hace, es la cantidad de "placas y ovillos" en el cerebro. Los cerebros con la enfermedad de Alzheimer están cargados con decenas a cientos de miles de "placas y ovillos" por milímetro

cuadrado, lo que provoca un marcado aumento en la muerte de neuronas, lo que lleva a una pérdida de sinapsis (conexiones entre neuronas) y a la pérdida simultánea de memoria y deterioro cognitivo.

[0012] Por lo tanto, la beta-amiloide y la tau son dos proteínas clave en el cerebro envejecido que se acumulan como "placas y ovillos" insolubles que han demostrado estar directamente relacionadas con la pérdida de memoria y el deterioro cognitivo. Actualmente no existe ningún medicamento farmacéutico que haya sido aprobado para reducir y eliminar tanto las "placas" de proteína beta-amiloide como los "ovillos" que contienen proteína tau en el cerebro.

La acumulación de "placas" en el cerebro envejecido de perro y gato

[0013] Los perros y gatos también acumulan "placas" (y, en menor medida, "enredos") en sus cerebros a medida que envejecen, que se cree que contribuyen al deterioro de la memoria y al deterioro cognitivo. La misma proteína beta-amiloide (es decir, "placas") y la proteína tau ("ovillos") que se acumulan en el cerebro humano también se acumulan en perros ancianos (Papoiannou *et al.*, Immunohistochemical investigation of the brain of aged dogs). I. Detection of neurofibrillary tangles and of 4-hydroxynonenal protein, an oxidative damage product, in senile plaques. *Amyloid* 8: 11 - 21, 2001; Uchida *et al.*, Amyloid angiopathy with cerebral hemorrhage and senile plaque in aged dogs. *Nihon Juigaku Zasshi* 52: 605-11, 1990) and cats (Gunn-Moore *et al.*, Cognitive dysfunction and the neurobiology of ageing in cats. *J Small Anim. Pract.* 48: 546-53, 2007; Nakamura *et al.* Senile plaques in very aged cats. *Acta Neuropath.* 91: 437-9, 1996).

[0014] La disfunción cognitiva canina (CCD, por sus siglas en inglés) (también conocida como síndrome de disfunción cognitiva o CDS) es una enfermedad prevalente en perros (y gatos) que exhiben síntomas de demencia o enfermedad de Alzheimer como se ve en humanos. La CCD crea cambios patológicos en el cerebro que ralentizan el funcionamiento mental de los perros (y gatos), lo que resulta en la pérdida de memoria, función motora y comportamientos aprendidos del entrenamiento temprano en la vida. En el cerebro del perro y del gato, el culpable es nuevamente la proteína beta-amiloide o A β que forma "placas" en el cerebro. A medida que el perro envejece, se acumulan más y más "placas" y mueren las células nerviosas. Aunque los síntomas iniciales de los trastornos son leves, empeoran gradualmente con el tiempo, también conocido como "deterioro cognitivo". Las "placas" de amiloide se presentan en perros de aproximadamente entre los cinco y siete años de edad, y en gatos de aproximadamente diez años de edad (lo cual es proporcional a su esperanza de vida promedio de 15 a 20 años). De hecho, los signos clínicos del síndrome de disfunción cognitiva se encuentran en el 50 % de los perros mayores de 11 años y, para los 15 años, el 68 % de los perros muestran al menos un signo. Los perros a menudo se confunden en lugares familiares de la casa, pasando largos períodos de tiempo en un área de la casa, sin responder a llamadas u órdenes y experimentan patrones anormales de sueño.

[0015] También se han identificado “placas” que contienen proteína beta-amiloide en el cerebro de otros mamíferos superiores, incluidos monos, osos, camellos y caballos. (Nakamura *et al.*, Histopathological studies of senile plaques and cerebral amyloidosis in cynomolgus monkeys. *J Med Primatol.* 27: 244 - 52, 1998; Capucchio *et al.* studies. *J Comp Pathol* 142: 61-73, 2010; Nakamura *et al.*, Senile plaques in an aged two-humped (Bactrian) camel (*Camelus bactrianus*), *Acta Neuropathol* 90: 415-8, 1995; Uchida *et al.*, Senile plaques and other senile changes in the brain of an aged American black bear, *Vet. Pathol.* 32: 412-4, 1995).

Tauopatías y "ovillos"

[0016] La proteína tau se descubrió a mediados de la década de 1970 como una proteína asociada a microtúbulos (Weingarten, 1975). Además de ser un estabilizador de microtúbulos en neuronas y otras células, desde entonces se ha descubierto que juega un papel importante en la diferenciación celular, la polarización y el transporte axonal. La tau normal es una proteína soluble unida a los microtúbulos, pero en una serie de enfermedades neurodegenerativas, ahora conocidas como tauopatías, la tau se acumula como una proteína fibrilar insoluble patógena. Estas inclusiones de tau parecen modular la gravedad de la demencia y las características clínicas de estas enfermedades neurodegenerativas. Las tauopatías incluyen enfermedades como la enfermedad de Alzheimer, la degeneración lobular frontotemporal con inclusiones de tau (FTLD-tau, por sus siglas en inglés) como la enfermedad de Pick, la parálisis supranuclear progresiva y la degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo, algunas enfermedades priónicas, complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo/demencia, encefalopatía traumática crónica y algunas formas genéticas de la enfermedad de Parkinson (VM Lee *et al.*, *Ann. Rev. Neurosci.* 24: 1121-1159, 2001; B. Omalu *et al.*, *Neurosurgery* 69 (1): 173-83, 2011; A. Rajput *et al.*, *Neurology* 67: 1506-1508, 2006; G. Santpere e I. Ferrer, *Acta Neuropathol.* 117: 227-246, 2009).

[0017] Uno de los efectos más notables del aumento de la tau fibrilar en el cerebro es el deterioro gradual de la memoria a corto plazo; es decir, la capacidad de recordar inmediatamente aquellos recuerdos almacenados recientemente (P. Giannakopoulos *et al.*, *Neurology* 60: 1495-1500, 2003).

Como no existe un tratamiento para estos trastornos, es importante encontrar una nueva invención que pueda actuar de forma selectiva sobre esta proteína patógena y mejorar los déficits de memoria.

Los "ovillos" se acumulan en el cerebro en lesiones cerebrales traumáticas (TBI), conmociones cerebrales, traumatismos en la cabeza y encefalopatía traumática crónica (CTE).

[0018] Los "ovillos" cerebrales que consisten en proteína tau también se acumulan progresivamente en el cerebro después de golpes en la cabeza e incluyen conmociones cerebrales, traumatismo craneoencefálico, trastorno de estrés postraumático (TEPT) y traumatismo craneoencefálico inducido por explosión (presente en soldados y personal militar que sufren lesiones traumáticas en

la cabeza inducidas por una sola explosión). La película "conmoción cerebral" y la Asociación de Jugadores de la NFL discuten el comportamiento del tipo demencia que se ha visto en los atletas después de repetidas conmociones cerebrales y/o golpes en la cabeza (conocido como lesión cerebral traumática o TBI). La pérdida del conocimiento es una característica clínica de la conmoción cerebral, pero no es necesaria para realizar el diagnóstico. Otros síntomas incluyen confusión, desorientación, inestabilidad, mareos, dolor de cabeza y alteraciones visuales.

[0019] Las consecuencias a largo plazo de lesiones cerebrales traumáticas se conocen como encefalopatía traumática crónica (CTE), que es una forma de tauopatía (es decir, la proteína tau que contiene "ovillos" en el cerebro). La CTE es una enfermedad degenerativa progresiva que se encuentra en personas que han sufrido traumatismos cerebrales repetidos, incluidos golpes subconmocionales en la cabeza que no causan síntomas inmediatos. Anteriormente, la enfermedad se llamaba demencia pugilística (DP), es decir, "borrachera por golpes", como se descubrió inicialmente en personas con antecedentes de boxeo. El CTE ahora se ha descubierto en el cerebro de atletas profesionales, incluidos los atletas de la NFL que juegan fútbol americano, los atletas propensos a sufrir lesiones en la cabeza, incluidos los que juegan hockey sobre hielo, rugby, esquí, patineta, acrobacias, monta de toros, rodeo y todos los demás deportes de contacto donde los participantes experimentan traumatismos cerebrales repetidos. Las personas con CTE muestran muchos signos de demencia, como pérdida de memoria, agresividad, confusión y depresión, que pueden aparecer años o décadas después del trauma. En septiembre de 2015, investigadores del Departamento de Asuntos de Veteranos y la Universidad de Boston anunciaron que habían identificado CTE en el 96 % de los jugadores de fútbol americano de la NFL que habían examinado y en el 79 % de todos los *jugadores de fútbol americano (Jason Breslow, New: 87 deceased NFL players test positive for brain disease. Primera plana, 9 de enero de 2016)*.

[0020] La neuropatología bajo un microscopio es clara: hay principalmente una acumulación de "ovillos" que consisten en proteína tau, similar a los "ovillos" que se observan en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer. También se encuentra un poco de depósito de proteína beta-amiloide (es decir, "placas"), pero esto suele ser poco común y menos característico que la acumulación de "ovillos" en el cerebro. Estos hallazgos sugieren que los golpes en la cabeza pueden conducir a una acumulación casi inmediata de "ovillos" cerebrales que luego conduce a síntomas similares a los de la demencia, incluida la pérdida de memoria y el deterioro cognitivo. La identificación de un producto nutricional que pueda ayudar a reducir y/o aclarar los "ovillos" cerebrales sería un suplemento extraordinario para que lo tomen todos los días todo tipo de atletas, jugadores de la NFL, las fuerzas armadas y sus soldados.

COMPENDIO DE LA INVENCION

[0021] En un aspecto, se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de grosella negra; extracto de *Uncaria tomentosa*; y un extracto de té oolong.

[0022] En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente 25 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición se formula como píldora, comprimido, comprimido oblongo, cápsula de gelatina blanda o dura, pastilla, sobre, oblea, cápsula vegetariana, gotas líquidas, elixir, suspensión, emulsión, solución, preparación de bebida, bebida de té fría o caliente, jarabe, bolsita de té, aerosol, supositorio, solución inyectable estéril o polvo envasado estéril. En algunas modalidades, la composición se formula como una cápsula. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1000 mg.

[0023] También se proporciona en otro aspecto una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de grosella negra.

[0024] En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente 25 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de

Uncaria tomentosa. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición se formula como píldora, comprimido, comprimido oblongo, cápsula de gelatina blanda o dura, pastilla, sobre, oblea, cápsula vegetariana, gotas líquidas, elixir, suspensión, emulsión, solución, preparación de bebida, bebida de té fría o caliente, jarabe, bolsita de té, aerosol, supositorio, solución inyectable estéril o polvo envasado estéril. En algunas modalidades, la composición se formula como una cápsula. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1000 mg. En las modalidades, la composición es más soluble que una composición que comprende extracto de *Uncaria tomentosa*; extracto de té oolong; y sin extracto de grosella negra.

[0025] También se proporciona en otro aspecto un método para el tratamiento de la amiloidosis en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero que lo necesita cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0026] En algunas modalidades, la amiloidosis es enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, demencia pugilística, síndrome de disfunción cognitiva, disfunción cognitiva canina, atrofia multisistémica, miositis por cuerpos de inclusión, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés, enfermedad de Nieman-Pick tipo C, angiopatía amiloide cerebral, demencia asociada con degeneración basal cortical, amiloidosis de diabetes tipo 2, amiloidosis de inflamación crónica, amiloidosis asociada a cáncer y fiebre mediterránea familiar, amiloidosis de mieloma múltiple y discrasias de linfocitos B, amiloidosis de enfermedades priónicas, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Síndrome de Gerstmann-Straussler, kuru, encefalopatía espongiforme, amiloidosis asociada con el síndrome del túnel carpiano, amiloidosis cardíaca senil, polineuropatía amiloidótica familiar o amiloidosis asociada con tumores endocrinos.

[0027] En otro aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de fibrillas de amiloide, que comprende tratar las fibrillas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0028] En otro aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de beta-amiloides que contienen placas, que comprende tratar las placas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0029] En otro aspecto se proporciona un método para el tratamiento de una tauopatía en un ser humano o mamífero que lo necesite, que comprende administrar al ser humano o mamífero que lo necesite con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0030] En algunas modalidades, la tauopatía es enfermedad de Alzheimer, degeneración lobular frontotemporal con esas inclusiones (FLTD-tau), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo, enfermedad priónica, complejo de esclerosis lateral amiotrófica-parkinsonismo-demencia de Guam (también llamada enfermedad de Lytico Bodig), enfermedad de Parkinson, demencia con predominio de ovillos, ganglioma, ganglioglioma, gangliocitoma, meningiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, lesiones cerebrales traumáticas (TBI), encefalopatía traumática crónica (CTE), demencia pugilística, conmoción cerebral, golpes únicos o repetidos en la cabeza o trastorno de estrés postraumático.

[0031] En otro aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de beta-amiloides que contienen ovillos, que comprende tratar los ovillos con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0032] En otro aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de placas que contienen proteína tau, que comprende tratar las placas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0033] En un aspecto, hay un método para mejorar el rendimiento cognitivo y/o ralentizar el deterioro cognitivo en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente para reducir la formación, depósito, acumulación o persistencia de placas de proteína beta-amiloide o fibrillas en el sujeto.

[0034] En algunas modalidades, el sujeto es un paciente que padece una enfermedad amiloide.

[0035] También se proporciona en un aspecto un método para mejorar el aprendizaje, la memoria, la cognición, la atención y/o la concentración en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0036] En algunas modalidades, el sujeto es un paciente con deterioro de la memoria asociado a la edad (AAMI, por sus siglas en inglés), deterioro cognitivo leve (MCI, por sus siglas en inglés) o enfermedad de Alzheimer.

[0037] En otro aspecto se proporciona un método para ~~inhibir~~ prevenir, reducir o tratar los ovillos en el cerebro de un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0038] En algunas modalidades, el sujeto es un paciente que ha experimentado conmociones cerebrales únicas o múltiples, lesión cerebral traumática (TBI), golpes en la cabeza, encefalopatía

traumática crónica (CTE), trastorno de estrés postraumático, envejecimiento cerebral, deterioro cognitivo leve o enfermedad de Alzheimer.

[0039] En otro aspecto se proporciona un método para prevenir, reducir o tratar placas y ovillos en el cerebro de un perro o gato envejecido, comprendiendo el método tratar las placas y los ovillos con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0040] En otro aspecto, se proporciona un método para mejorar el rendimiento cognitivo y/o ralentizar el deterioro cognitivo en un perro o gato envejecido que sufre de formación, depósito, acumulación y/o persistencia de placas y ovillos en el cerebro, que comprende administrar al perro o gato envejecido cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0041] En otro aspecto se proporciona un método para mejorar el rendimiento deportivo en un sujeto mediante la inhibición o reducción de los ovillos en el cerebro que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0042] La **FIG. 1** representa un gráfico de agregación de A β 1-42 medida por fluorometría de tioflavina T y unión con rojo Congo después de la incubación con extracto de té oolong (LOTE) y PTI-00703®.

[0043] Las **FIG. 2A, 2B y 2C** representan imágenes representativas de rojo Congo, tioflavina S y micrografías electrónicas de fibrillas A β +/- LOTE y PTI-00703®.

[0044] La **FIG. 3** representa un gráfico de agregación de A β 1-40 medida por fluorometría de tioflavina T y unión con rojo Congo después de la incubación con LOTE y PTI-00703®.

[0045] La **FIG. 4** representa un espectro de dicroísmo circular de A β 1-40 después del tratamiento con concentraciones crecientes de LOTE y PTI-00703®.

[0046] Las **FIG. 5A, 5B, 5C, 5D, 5E, 5F y 5G** representan datos de diversas pruebas internas para caracterizar las fibrillas de TauRD para el cribado de inhibidores de la agregación de tau.

[0047] La **FIG. 6** representa un gráfico de agregación de tau medida por fluorometría de tioflavina S después de la incubación con extractos de té.

[0048] La **FIG. 7** representa un gráfico de agregación de tau medida por fluorometría de tioflavina S después de la incubación con LOTE y PTI-00703®.

[0049] La **FIG. 8** representa un gráfico de la estructura secundaria de tau medida por espectroscopía de dicroísmo circular después del tratamiento con LOTE.

[0050] La **FIG. 9** representa una micrografía electrónica de la formación de fibrillas de tau con PTI-00703® y LOTE.

[0051] La **FIG. 10** representa micrografías electrónicas de fibrillas de tau preformadas tratadas con PTI-00703® y LOTE.

[0052] La **FIG. 11** representa el gráfico de agregación de A β 1-42 medida por fluorometría de tioflavina T después de la incubación con: Composición 11.1; Composición 11.2; Composición 11.3; Composición 11.4, Composición 11.5, Composición 11.6 y Composición 11.7.

[0053] La **FIG. 12** representa el gráfico de agregación de A β 1-42 medida por fluorometría de tioflavina T después de la incubación con: Composición 18.1; Composición 18.2; Composición 18.3; Composición 18.4, Composición 18.5, Composición 18.6 y Composición 18.7.

[0054] La **FIG. 13** representa el gráfico de agregación de A β 1-42 medida por fluorometría de tioflavina T después de la incubación con: Composición 19.1; Composición 19.2; Composición 19.3; Composición 19.5, Composición 19.6, Composición 19.7, Composición 19.8 y Composición 19.9.

[0055] La **FIG. 14** representa el gráfico de agregación de A β 1-42 medida por fluorometría de tioflavina T después de la incubación con: Composición 21.1; Composición 21.2; Composición 21.3; Composición 21.5, Composición 21.6 y Composición 21.7.

[0056] La **FIG. 15** muestra el extracto de uña de gato/té oolong en cápsulas en comparación con las cápsulas de uña de gato/ té oolong/grosella negra.

[0057] La **FIG. 16** muestra un vaso de agua con una cápsula que contiene un extracto de té de uña de gato/oolong en comparación con una cápsula que contiene uña de gato/té oolong/grosella negra.

[0058] Las **FIG. 17A, 17B y 17C** comparan la disolución inicial (en 5 segundos) en agua de una cápsula única de té de uña de gato/oolong en comparación con una cápsula de uña de gato/té oolong/grosella negra. La **FIG. 17A** demuestra la disolución de una sola cápsula de extracto de té de uña de gato/oolong en unos pocos segundos en agua. La **FIG. 17B** demuestra la disolución de una sola cápsula de uña de gato/té oolong/grosella negra en unos pocos segundos dentro del agua. Se destaca que ambas soluciones contienen inicialmente grumos en la parte superior del vaso de agua. La **FIG. 17C** demuestra que en 10-15 segundos la combinación de uña de gato/té oolong/grosella negra comienza a disolverse en agua.

[0059] Las **FIG. 18A, 18B y 18C** comparan la disolución en agua de un extracto de uña de gato/té oolong en comparación con el extracto de uña de gato/té oolong con grosella negra. La **FIG. 18A** demuestra el sorprendente descubrimiento de que la adición de grosella negra hace que el extracto de té de uña de gato/oolong sea más soluble en agua y tenga un sabor mucho mejor. La **FIG. 18B** demuestra que el extracto de uña de gato/té oolong todavía contiene mucho material insoluble en agua que flota hasta la parte superior del vaso. La **FIG. 18C** demuestra que la adición de grosella negra hace que el extracto de uña de gato/té oolong sea mucho más soluble en agua con poco o nada de material insoluble en la parte superior del vaso.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0060] En la presente, en un aspecto, se encuentra una composición que comprende extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa* y un extracto de té oolong. La composición es útil para el tratamiento de sujetos humanos con tauopatías, enfermedades amiloides, "placas y/u ovillos" en el cerebro y aquellos con lesión cerebral traumática (TBI), conmociones cerebrales (como se observa en la mayoría de los atletas y militares/soldados), Trastornos por estrés postraumático, traumatismo craneoencefálico, golpes en la cabeza (únicos o repetidos) y encefalopatía traumática crónica (CTE).

[0061] En algunas modalidades, la composición inhibe eficazmente la formación de fibrillas de amiloide, inhibe el crecimiento de fibrillas de amiloide y/o provoca la disolución y/o disgregación de las fibrillas de amiloide preformadas. En algunas modalidades, la composición inhibe la formación de fibrillas de tau (importante para sujetos con tauopatía en etapa temprana o media); inhibe el crecimiento de las fibrillas de tau (importante para los sujetos con tauopatía en etapa temprana o media) y/o provoca la disolución/disgregación de las fibrillas de tau preformadas (importante para la tauopatía en etapa tardía). En algunas modalidades, la composición es útil para el desarrollo de un suplemento cognitivo y de memoria, para prevenir, reducir y/o eliminar las "placas y ovillos" cerebrales en humanos.

[0062] Esta descripción reconoce que la cantidad de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas presentes en el extracto de grosella negra es importante para la actividad descrita en la presente. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas en peso, preferiblemente aproximadamente 25 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación. Esta descripción también reconoce que varios extractos de plantas, incluso de la misma fuente vegetal, tienen una eficacia diferente para disolver placas y ovillos, como el extracto de té oolong. En algunas modalidades, el extracto de té oolong es LOTE. En algunas modalidades, el extracto de té oolong es MemorTea®. En algunas modalidades, el extracto de té oolong se obtiene de las montañas Guan Yin de China y es proporcionado por AuNutra Industries, Chino, CA. En algunas modalidades, la composición que comprende extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa* y un extracto de té oolong proporciona una actividad sorprendente e inesperada en comparación con otros extractos de plantas o con cada extracto solo. En algunas modalidades, la combinación de extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa* y un extracto de té oolong proporciona una eficacia sinérgica o complementaria.

Definiciones

[0063] Salvo que se indique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos que se utilizan en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Como se usa en la presente, los siguientes términos tienen los significados que se les atribuyen a continuación, a menos que se especifique lo contrario. La terminología utilizada en la presente únicamente tiene el fin de describir ejemplos de modalidades particulares y no pretende ser taxativa.

[0064] Tal como se usan en la presente, se pretende que las formas singulares «un», «una», «el» y «la» incluyan también las formas plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

[0065] Como se usa en la presente, los términos "aproximadamente" cuando se usan para modificar un valor numérico o rango numérico, indican que las desviaciones del 5 % al 10 % por encima y del 5 % al 10 % por debajo del valor o rango permanecen dentro del significado pretendido del valor o rango mencionado.

[0066] Como se usa en la presente, un "control" es una muestra alternativa que se usa en un experimento con fines comparativos. Un control puede ser "positivo" o "negativo". Por ejemplo, cuando el propósito del experimento es determinar una correlación de la eficacia de un agente terapéutico para el tratamiento de un tipo particular de enfermedad, se emplean típicamente un control positivo (una composición que se sabe que exhibe el efecto terapéutico deseado) y un control negativo (un sujeto o una muestra que no recibe la terapia o recibe un placebo).

[0067] "Comprender" significará que los métodos y composiciones incluyen los elementos enumerados, pero no excluyen otros. Cuando se usa para definir métodos y composiciones, "que consiste esencialmente en" significará excluir otros elementos de cualquier significado esencial para la combinación del propósito indicado. Por tanto, una composición que consiste esencialmente en los elementos definidos en la presente no excluiría trazas de contaminantes del método de aislamiento y purificación y portadores farmacéuticamente aceptables, tales como solución salina tamponada con fosfato, conservantes y similares. "Que consta de" significará excluir más que trazas de otros ingredientes y pasos sustanciales del método para administrar las composiciones de esta invención o pasos del proceso para producir una composición o lograr un resultado deseado. Las modalidades definidas por cada uno de estos términos y frases de transición están dentro del alcance de esta invención.

[0068] Una "cantidad terapéuticamente eficaz" en general significa la cantidad que, cuando se administra a un sujeto o animal para tratar una enfermedad, es suficiente para afectar el grado de tratamiento deseado para la enfermedad. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" o una "dosis terapéuticamente eficaz" preferiblemente inhibe, reduce, interrumpe, desarma la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas de tau, o trata una enfermedad asociada con estas

afecciones, como una tauopatía, al menos 20 %, más preferiblemente en al menos 40 %, incluso más preferiblemente en al menos 60 %, y aún más preferiblemente en al menos 80 %, con respecto a un sujeto no tratado. Las cantidades efectivas de un compuesto de esta invención o composición del mismo para el tratamiento de un sujeto mamífero son de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal del sujeto/día, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg/kg/día, especialmente de aproximadamente 10 a aproximadamente 100 mg/kg/día. Se cree que una amplia gama de dosis de las composiciones descritas son seguras y eficaces.

[0069] Las "antocianidinas" son las contrapartes sin azúcar de las antocianinas. Los ejemplos de antocianidinas incluyen, pero no se limitan a, cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina.

[0070] Las "antocianinas" son pigmentos de color hidrosolubles que pertenecen al grupo fenólico. Las antocianinas se basan en el ión flavilio o 2-fenilcromenilo. Los ejemplos de antocianidinas incluyen, pero no se limitan a, los glucósidos de cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina y petunidina. Dichos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, delphinidin-3-O-glucósido, delphinidin-3-O-rutinósido, cianidin-3-O-glucósido y cianidin-3-O-rutinósido.

[0071] Las "enfermedades amiloides" o "amiloidosis" adecuadas para el tratamiento con las composiciones de esta invención son enfermedades asociadas con la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas de amiloide, especialmente las fibrillas de una proteína amiloide seleccionada del grupo que consiste en proteína beta-amiloide o A β , amiloide AA, amiloide AL, amiloide IAPP, amiloide PrP, amiloide α 2-microglobulina, transtiretina, prealbúmina y procalcitonina, especialmente amiloide A β e IAPP. Tales enfermedades adecuadas incluyen la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, deterioro cognitivo leve (MCI), disfunción cognitiva canina (CDD), lesión cerebral traumática (TBI), encefalopatía traumática crónica (CTE), conmociones cerebrales, traumatismo auditivo, golpes únicos y múltiples en la cabeza, trastornos por estrés postraumático, demencia pugilística, atrofia multisistémica, miositis por cuerpos de inclusión, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés, enfermedad de Nieman-Pick tipo C, angiopatía β -amiloide cerebral, demencia asociada con degeneración basal cortical, amiloidosis de diabetes tipo 2, amiloidosis de inflamación crónica, amiloidosis asociada a cáncer y fiebre mediterránea familiar, amiloidosis de mieloma múltiple y discrasias de linfocitos B, amiloidosis de enfermedades priónicas, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Síndrome de Gertsman-Straussler, kuru, encefalopatía espongiiforme, amiloidosis asociada con el síndrome del túnel carpiano, amiloidosis cardíaca senil, polineuropatía amiloidótica familiar y amiloidosis asociada con tumores endocrinos.

[0072] "Fibrillogénesis" se refiere a la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas, filamentos, inclusiones, depósitos, inclusiones de tau o similares.

[0073] "Inhibición de la fibrillogénesis" se refiere a la inhibición de la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de tales depósitos de tipo fibrillas de "placa" amiloide u "ovillos" de tau.

[0074] La "disgregación de las fibrillas o fibrillogénesis" se refiere a la disgregación de las fibrillas de beta-amiloide o de tau preformadas que normalmente existen en una estructura secundaria de hoja beta predominante. Tal disgregación por los compuestos de la invención puede implicar una marcada reducción o desensamblaje de fibrillas beta-amiloide o tau según se evalúa mediante varios métodos tales como espectroscopía de dicroísmo circular, fluorometría de tioflavina S, transferencia SDS-PAGE/Western o microscopía electrónica de tinción negativa, como se demostró en los Ejemplos presentados en la presente solicitud.

[0075] "Mamíferos" incluye tanto a seres humanos como a mamíferos no humanos, como animales de compañía (perros, gatos y similares), animales de laboratorio (como ratones, ratas, conejillos de indias y similares) y animales de granja (ganado, caballos, ovejas, cabras, porcinos y similares). En algunas modalidades, el mamífero es un ser humano. En algunas modalidades, el mamífero es un perro o gato.

[0076] Las "placas" se refieren a los "depósitos amiloides" que parecen albóndigas que consisten en proteína beta-amiloide o A β que se encuentran en varias regiones del cerebro (incluido el hipocampo, la corteza cerebral, la corteza frontal, etc.) que es un sello patológico del envejecimiento cerebral, leve deterioro cognitivo (MCI), enfermedad de Alzheimer, y se encuentra en mamíferos envejecidos tales como perros, gatos (denominado Disfunción Cognitiva Canina o CDD), monos, osos polares, caballos y similares. Se cree que la acumulación de "placas" de amiloide en el cerebro conduce a la neurodegeneración, pérdida de sinapsis y conexiones entre neuronas, deterioro cognitivo, deterioro y pérdida de memoria y pérdida de atención y concentración.

[0077] Las "proantocianidinas" son flavonoides oligoméricos. Las proantocianidinas incluyen dímeros u oligómeros de catequina y epicatequina y sus ésteres de ácido gálico.

[0078] El término "sujeto", como se usa en la presente, se refiere a un animal que es objeto de tratamiento, observación o experimento. Solo a modo de ejemplo, un sujeto puede ser, entre otros, un mamífero que incluye, pero no se limita a, un ser humano, un gato o un perro. En algunas modalidades, el sujeto es un ser humano. En algunas modalidades, el sujeto humano es un paciente. En algunas modalidades, el sujeto es un gato. En algunas modalidades, el sujeto es un perro.

[0079] Los "ovillos" se refieren a los "depósitos de enredos" que parecen espaguetis "secos" que consisten en la proteína tau que se encuentra en varias regiones del cerebro (incluido el hipocampo, la corteza cerebral, la corteza frontal, etc.) que es un sello patológico del envejecimiento cerebral, deterioro cognitivo leve, enfermedad de Alzheimer, conmociones cerebrales, lesión cerebral

traumática (TBI), golpes únicos y repetidos en la cabeza, trastornos por estrés postraumático, encefalopatía traumática crónica (CTE) y similares.

[0080] Las "tauopatías" adecuadas para el tratamiento con los compuestos de esta invención también son enfermedades asociadas con la formación, depósito, acumulación o persistencia de fibrillas de tau. Las enfermedades adecuadas incluyen la enfermedad de Alzheimer, la degeneración lobular frontotemporal con inclusiones de tau (FTLD-tau) como la enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva y degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirofílico, algunas enfermedades priónicas, complejo de esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo/demencia de Guam (también llamada enfermedad de Lytico Bodig), demencia pugilística, encefalopatía traumática crónica, enfermedad de Parkinson y, en particular, algunas formas genéticas de la enfermedad de Parkinson, demencia con predominio de ovillos (con ovillos neurofibrilares similares a la enfermedad de Alzheimer, pero sin placas amiloides).

[0081] Fibrillas de tau es un término genérico que se refiere a un grupo de depósitos de proteínas intracelulares o extracelulares diversos, pero específicos, que tienen propiedades morfológicas, características de tinción y espectros de difracción de rayos X en común.

[0082] El "tratar" o "tratamiento" de una enfermedad incluye evitar que la enfermedad se produzca en un mamífero que puede estar predispuesto a la enfermedad pero que todavía no experimenta o no presenta síntomas de la enfermedad (tratamiento profiláctico). El tratamiento también puede significar inhibir la enfermedad (ralentizar o detener su desarrollo), proporcionar alivio de los síntomas o efectos secundarios de la enfermedad (incluido el tratamiento paliativo) y atenuar la enfermedad (provocar la regresión de la enfermedad), como por ejemplo, mediante la disgregación de fibrillas de tau preformadas. El tratamiento no necesita ser absoluto. Uno de tales tratamientos preventivos puede ser el uso de los compuestos descritos para el tratamiento del deterioro cognitivo leve (MCI).

Composiciones

[0083] En un aspecto, se proporciona una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de grosella negra, una cantidad terapéuticamente eficaz de *extracto de Uncaria tomentosa* y una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de té oolong.

[0084] En un aspecto, se proporciona una composición que consiste en una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de grosella negra, una cantidad terapéuticamente eficaz de *extracto de Uncaria tomentosa*, una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de té oolong y uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

[0085] En un aspecto, se proporciona una composición que consiste esencialmente de una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de grosella negra, una cantidad terapéuticamente eficaz de

extracto de *Uncaria tomentosa* y una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de té oolong y uno, o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables.

[0086] Se proporciona en un aspecto una composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende además una cantidad terapéuticamente eficaz de extracto de *Uncaria tomentosa* y una cantidad terapéuticamente eficaz de un extracto de té oolong.

[0087] En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente benefician a sujetos humanos con amiloidosis y mamíferos envejecidos (tales como perros y gatos que desarrollan "placas" amiloides en el cerebro a medida que envejecen). En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente son útiles para el tratamiento/inhibición del depósito, acumulación y/o persistencia de amiloide que ocurre en la amiloidosis. En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente son útiles para la inhibición de la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas de tau.

[0088] En algunas modalidades, las composiciones que comprenden los extractos descritos en la presente inhiben la formación de fibrillas de tau más que cualquiera de los extractos solos, y también tienen la capacidad de disgregar rápidamente las fibrillas de tau preformadas. En algunas modalidades, las composiciones que comprenden los extractos descritos en la presente inhiben la formación de fibrillas de amiloide más que cualquiera de los extractos solos, y también tienen la capacidad de disgregar rápidamente las fibrillas de amiloide preformadas.

[0089] En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente tienen una actividad o eficacia inhibidora de fibrillas mayor a aproximadamente 50 %, mayor a aproximadamente 55 %, mayor a aproximadamente 60 %, mayor a aproximadamente 65 %, mayor a aproximadamente 70 %, mayor a aproximadamente 75 %, mayor a aproximadamente 80 %, mayor a aproximadamente 85 %, mayor a aproximadamente 90 %, mayor a aproximadamente 95 % o mayor a aproximadamente 99 %.

[0090] En algunas modalidades, las composiciones se formulan en una forma de dosificación única, como una cápsula. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 2000 mg. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 1000 mg. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 2000 mg. En algunas modalidades, la cápsula es de aproximadamente 200 mg a aproximadamente 1000 mg. En algunas modalidades, la cápsula tiene aproximadamente 100 mg, aproximadamente 125 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 175 mg, aproximadamente

200 mg, aproximadamente 225 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 275 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 325 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 375 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 425 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 475 mg, aproximadamente 500 mg, aproximadamente 525 mg, aproximadamente 550 mg, aproximadamente 575 mg, aproximadamente 600 mg, aproximadamente 625 mg, aproximadamente 650 mg, aproximadamente 670 mg, aproximadamente 675 mg, aproximadamente 700 mg, aproximadamente 725 mg, aproximadamente 750 mg, aproximadamente 775 mg, aproximadamente 800 mg, aproximadamente 825 mg, aproximadamente 850 mg, aproximadamente 875 mg, aproximadamente 900 mg, aproximadamente 925 mg, aproximadamente 950 mg, aproximadamente 975 mg, aproximadamente 1000 mg, aproximadamente 1050 mg, aproximadamente 1200 mg, aproximadamente 1250 mg, aproximadamente 1300 mg, aproximadamente 1350 mg, aproximadamente 1400 mg, aproximadamente 1450 mg, aproximadamente 1500 mg, aproximadamente 1600 mg, aproximadamente 1700 mg, aproximadamente 1800 mg, aproximadamente 1900 mg o aproximadamente 2000 mg.

Grosella negra

[0091] Cultivada por sus bayas, la grosella negra (*Ribes nigrum*) es un arbusto leñoso de la familia *Grossulariaceae*. Es originaria de las zonas templadas del centro y norte de Europa, Nueva Zelanda y el norte de Asia y se cultiva ampliamente tanto a nivel comercial como doméstico. Además de un alto contenido de vitamina C, las bayas contienen flavonoides y al menos 15 ácidos fenólicos diferentes, que incluyen antocianinas, antocianidinas y proantocianidinas. Las principales antocianinas que se han identificado a partir de la grosella negra incluyen delfinidin-3-O-glucósido, delfinidin-3-O-rutinósido, cianidin-3-O-glucósido y cianidin-3-O-rutinósido.

[0092] Esta descripción reconoce que la cantidad de antocianinas, antocianidinas, proantocianidinas o una combinación de las mismas presentes en el extracto de grosella negra es importante para la actividad descrita en la presente. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente 15 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 15 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende cualquiera de aproximadamente 15 % a aproximadamente 30 %, aproximadamente 15 % a aproximadamente 25 %, aproximadamente 15 % a 20 %, aproximadamente 20 % a aproximadamente 35 % y aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 % en peso de

proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de los mismos. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 11 %, aproximadamente el 12 %, aproximadamente el 13 %, aproximadamente el 14 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 16 %, aproximadamente el 17 %, aproximadamente el 18 %, aproximadamente el 19 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 21 %, aproximadamente 22 %, aproximadamente 23 %, aproximadamente 24 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 31 %, aproximadamente 32 %, aproximadamente 33 %, aproximadamente 34 % o aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente 25 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 20 % a aproximadamente 30 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 15 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas.

[0093] En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende antocianinas, antocianidinas, proantocianidinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende antocianinas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende antocianidinas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende proantocianidinas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende una combinación de antocianinas, antocianidinas, proantocianidinas.

[0094] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 250 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 100 mg de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente 10 mg, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 60 mg, aproximadamente 70 mg, aproximadamente 80 mg, aproximadamente 90 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 110 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg,

aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 450 mg o aproximadamente 500 mg de extracto de grosella negra.

[0095] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 30 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 20 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 10 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 30 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 20 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 1 % a aproximadamente 10 % en peso de extracto de grosella negra. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente 0,1 %, aproximadamente 0,2 %, aproximadamente 0,3 %, aproximadamente 0,4 %, aproximadamente 0,5 %, aproximadamente 0,6 %, aproximadamente 0,7 %, aproximadamente 0,8 %, aproximadamente 0,9 %, aproximadamente 1 %, aproximadamente 2 %, aproximadamente 3 %, aproximadamente 4 %, aproximadamente 5 %, aproximadamente 6 %, aproximadamente 7 %, aproximadamente 8 %, aproximadamente 9 %, aproximadamente 10 %, aproximadamente 11 %, aproximadamente 12 %, aproximadamente 13 %, aproximadamente 14 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 16 %, aproximadamente el 17 %, aproximadamente el 18 %, aproximadamente el 19 %, aproximadamente el 20 %, aproximadamente el 21 %, aproximadamente el 22 %, aproximadamente el 23 %, aproximadamente el 24 %, aproximadamente el 25 %, aproximadamente el 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 % o aproximadamente 30 % en peso de extracto de grosella negra.

Uña de gato

[0096] La planta *Uncaria tomentosa*, también conocida como “Uña de Gato” (en español) o “Cat's claw” (en inglés) se refiere a una enredadera leñosa que crece dentro de la selva amazónica. Otros nombres para Uña de gato también incluyen Paraguayo, Garabato, Garbato casha, Tambor huasca, Uña de gavián, Uña de halcón, Uña de gato y Uña de gato Schuler. Esta enredadera de crecimiento lento tarda 20 años en alcanzar la madurez y puede crecer más de 100 pies de largo a medida que se adhiere y se envuelve alrededor de los árboles nativos. Se encuentra de forma abundante en las estribaciones, en elevaciones de dos a ocho mil metros. La enredadera se conoce como “uña de gato” debido a sus distintivas espinas curvas en forma de garra que se proyectan desde la base de sus hojas. Se espera que la *Uncaria tomentosa* tenga propiedades inmunitarias, antiinflamatorias, antivirales, antimutagénicas y antioxidantes. Se espera que las propiedades antiinflamatorias, por

ejemplo, sean beneficiosas para el tratamiento de artritis, reumatismo, bursitis y gota. Sin pretender limitarse por la teoría, se cree que sus efectos beneficiosos en el tratamiento del dolor de la artritis pueden deberse, en parte, a su capacidad para limpiar el tracto digestivo y para ayudar a eliminar las toxinas del cuerpo. Además, se espera que la *Uncaria tomentosa* o uña de gato alivie el dolor y que sea útil para reducir el dolor asociado, por ejemplo, con la quimioterapia, el tratamiento con radiación y el uso de AZT.

[0097] También se espera que la *Uncaria tomentosa* o uña de gato sea útil para detener las infecciones virales al detener las infecciones virales en las primeras etapas, combatir las infecciones oportunistas en pacientes con SIDA y disminuir el tamaño viable de algunos tumores y quistes de piel. La *Uncaria tomentosa* también se puede usar para tratar una variedad de dolencias, que incluyen cáncer, SIDA, enfermedad de Crohn, infecciones respiratorias, alergias, herpes, problemas de próstata, lupus, virus de Epstein Barr, síndrome de fatiga crónica y una variedad de trastornos del estómago y de los intestinos.

[0098] Para obtener más información y antecedentes sobre *Uncaria tomentosa*, también se remite al lector a la publicación internacional de la OMPI de los inventores número W098/51302, que se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

[0099] Anteriormente, descubrimos y divulgamos un producto vegetal natural, la corteza interna y/o las raíces de la planta *Uncaria tomentosa*, o uña de gato, que llamamos PTI-00703®, en la publicación internacional de la OMPI número W098/ 51302 titulada "Composición y métodos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras amiloidosis", con fecha del 19 de noviembre de 1998, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Como se describe allí, este compuesto vegetal solo tiene una eficacia sorprendente para disgregar y/o disolver depósitos de amiloide y otras acumulaciones, y se cree que es un potente inhibidor de la formación de amiloide en la enfermedad de Alzheimer, la diabetes de tipo II y otras amiloidosis.

[0100] El extracto de *Uncaria tomentosa* PTI-00703® también se conoce como '703' o 'PTI-703' para la intervención terapéutica de la amiloidosis. El PTI-00703® se deriva de la corteza de la uña de gato que se encuentra en la selva amazónica. En algunas modalidades, el extracto de *Uncaria tomentosa* es PTI-00703. En algunas modalidades, el extracto de *Uncaria tomentosa* se deriva de la corteza interna y/o raíces. En algunas modalidades, el extracto de *Uncaria tomentosa* se deriva de la corteza interna y/o raíces provenientes de la selva amazónica.

[0101] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 250 mg de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la

composición comprende aproximadamente 100 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg o aproximadamente 500 mg de extracto de *Uncaria tomentosa*.

[0102] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 5 % a aproximadamente 60 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 60 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 11 %, aproximadamente el 12 %, aproximadamente el 13 %, aproximadamente el 14 %, aproximadamente el 15 %, aproximadamente el 16 %, aproximadamente el 17 %, aproximadamente el 18 %, aproximadamente el 19 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 21 %, aproximadamente 22 %, aproximadamente 23 %, aproximadamente 24 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 31 %, aproximadamente 32 %, aproximadamente el 33 %, aproximadamente el 34 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 36 %, aproximadamente el 37 %, aproximadamente el 38 %, aproximadamente el 39 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 41 %, aproximadamente el 42 %, aproximadamente el 43 %, aproximadamente el 44 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 46 %, aproximadamente 47 %, aproximadamente 48 %, aproximadamente 49 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 51 %, aproximadamente 52 %, aproximadamente 53 %, aproximadamente 54 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 56 %, aproximadamente 57 %, aproximadamente 58 %, aproximadamente 59 % o aproximadamente 60 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa*.

Té oolong

[0103] El té Oolong es un té *chino* (*Camellia sinensis*) producido a través de un proceso que incluye secar la planta bajo un sol fuerte y oxidarla antes de rizarla y retorcerla. Los presentes Inventores examinaron más de 25 extractos de té, junto con extractos de café y yerba mate, para determinar la inhibición de la agregación y disgregación de fibrillas de amiloides *in vitro* utilizando una variedad de ensayos. Los presentes Inventores reconocieron que el uso de un extracto de té oolong en combinación con un extracto de *Uncaria tomentosa* exhibía inhibición de la agregación y disgregación de fibrillas de amiloides. En algunas modalidades, el extracto de té oolong es LOTE. En algunas modalidades, el extracto de té oolong es MemorTea®. En algunas modalidades, el extracto de té oolong se obtiene de las montañas Guan Yin de China y es proporcionado por AuNutra Industries, Chino, CA.

[0104] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 500 mg de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 250 mg de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 100 mg a aproximadamente 300 mg de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente 100 mg, aproximadamente 120 mg, aproximadamente 130 mg, aproximadamente 140 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 160 mg, aproximadamente 170 mg, aproximadamente 180 mg, aproximadamente 190 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 210 mg, aproximadamente 220 mg, aproximadamente 230 mg, aproximadamente 240 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 260 mg, aproximadamente 270 mg, aproximadamente 280 mg, aproximadamente 290 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 310 mg, aproximadamente 320 mg, aproximadamente 330 mg, aproximadamente 340 mg, aproximadamente 350 mg, aproximadamente 360 mg, aproximadamente 370 mg, aproximadamente 380 mg, aproximadamente 390 mg, aproximadamente 400 mg, aproximadamente 410 mg, aproximadamente 420 mg, aproximadamente 430 mg, aproximadamente 440 mg, aproximadamente 450 mg, aproximadamente 460 mg, aproximadamente 470 mg, aproximadamente 480 mg, aproximadamente 490 mg o aproximadamente 500 mg de extracto de té oolong.

[0105] En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 5 % a aproximadamente 60 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 5 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 60 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 40 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades, la composición comprende aproximadamente el 10 %, aproximadamente el 11 %, aproximadamente el 12 %, aproximadamente el 13 %, aproximadamente el 14 %, aproximadamente

el 15 %, aproximadamente el 16 %, aproximadamente el 17 %, aproximadamente el 18 %, aproximadamente el 19 %, aproximadamente 20 %, aproximadamente 21 %, aproximadamente 22 %, aproximadamente 23 %, aproximadamente 24 %, aproximadamente 25 %, aproximadamente 26 %, aproximadamente 27 %, aproximadamente 28 %, aproximadamente 29 %, aproximadamente 30 %, aproximadamente 31 %, aproximadamente 32 %, aproximadamente el 33 %, aproximadamente el 34 %, aproximadamente el 35 %, aproximadamente el 36 %, aproximadamente el 37 %, aproximadamente el 38 %, aproximadamente el 39 %, aproximadamente el 40 %, aproximadamente el 41 %, aproximadamente el 42 %, aproximadamente el 43 %, aproximadamente el 44 %, aproximadamente 45 %, aproximadamente 46 %, aproximadamente 47 %, aproximadamente 48 %, aproximadamente 49 %, aproximadamente 50 %, aproximadamente 51 %, aproximadamente 52 %, aproximadamente 53 %, aproximadamente 54 %, aproximadamente 55 %, aproximadamente 56 %, aproximadamente 57 %, aproximadamente 58 %, aproximadamente 59 % o aproximadamente 60 % en peso de extracto de té oolong.

[0106] En algunas modalidades de ejemplo, la composición comprende del 1 % al 20 % en peso de extracto de grosella negra con 25 % de antocianinas, del 10 % al 50 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa* y del 10 % al 50 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades de ejemplo, la composición comprende del 1 % al 15 % en peso de extracto de grosella negra con 25 % de antocianinas, del 10 % al 45 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa* y del 10 % al 45 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades de ejemplo, la composición comprende del 1 % al 10 % en peso de extracto de grosella negra con 25 % de antocianinas, del 10 % al 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa* y del 10 % al 40 % en peso de extracto de té oolong. En algunas modalidades de ejemplo, la composición comprende del 1 % al 10 % en peso de extracto de grosella negra con 25 % de antocianinas, del 20 % al 40 % en peso de extracto de *Uncaria tomentosa* y del 20 % al 40 % en peso de extracto de té oolong.

[0107] En algunas modalidades de ejemplo, la composición comprende extracto de grosella negra; extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong, en donde el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong son componentes activos. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende de aproximadamente 10 % a aproximadamente 35 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra comprende aproximadamente 25 % en peso de proantocianidinas, antocianidinas, antocianinas o una combinación de las mismas. En algunas modalidades, la grosella negra es aproximadamente del 1 % al 20 % en peso, del 1 % al 15 % en peso, o del 1 % al 10 % en peso de los componentes activos de la composición, donde el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong son componentes activos de la composición. En algunas modalidades, el extracto de

Uncaria tomentosa es de aproximadamente 10 % a 50 % en peso, 10 % a 45 % en peso, 10 % a 40 % en peso, o aproximadamente 20 % a 40 % en peso de los componentes activos de la composición, en donde el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong son componentes activos de la composición. En algunas modalidades, el extracto de té oolong es de aproximadamente 10 % a 50 % en peso, 10 % a 45 % en peso, 10 % a 40 % en peso, o aproximadamente 20 % a 40 % en peso de los componentes activos de la composición, en donde el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong son componentes activos de la composición.

[0108] En un aspecto, se proporciona una composición mezclada que comprende extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong que es más soluble (*por ejemplo*, soluble en agua) que una composición mezclada que no contiene extracto de grosella negra, como una composición que comprende extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong como agentes activos. En una composición mezclada que comprende extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong que es más soluble (*por ejemplo*, soluble en agua) que una composición mezclada que no contiene extracto de grosella negra, como una composición que comprende extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong como agentes activos. En algunas modalidades, la adición de extracto de grosella negra a una composición que contiene extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong aumenta la solubilidad en agua del extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong. En algunas modalidades, la adición de extracto de grosella negra a una composición que contiene extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong aumenta la solubilidad (*por ejemplo*, solubilidad en agua o solubilidad acuosa) del extracto de *Uncaria tomentosa* y/o el extracto de té oolong en al menos 1 vez, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 30 veces, al menos 40, o al menos 50, incluyendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces. En algunas modalidades, la adición de extracto de grosella negra a una composición que contiene extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong aumenta la solubilidad (*por ejemplo*, solubilidad en agua o solubilidad acuosa) del extracto de *Uncaria tomentosa* y/o el extracto de té oolong en al menos 1 vez, a al menos 50 veces, o al menos 1 vez, a al menos 20 veces, incluyendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces. En algunas modalidades, la adición de extracto de grosella negra a una composición que contiene extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong aumenta la solubilidad (*por ejemplo*, solubilidad en agua o solubilidad acuosa) del extracto de *Uncaria tomentosa* y/o el extracto de té oolong en al menos 1 vez, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 20 veces, al menos 30 veces, al menos 40, o al menos 50, incluyendo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces más que una composición sin extracto de grosella negra, como una composición que contiene extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong como

los únicos ingredientes activos. En algunas modalidades, la composición que comprende extracto de grosella negra, extracto de *Uncaria tomentosa*, extracto de té oolong tiene una mayor solubilidad (*por ejemplo*, solubilidad en agua o solubilidad acuosa) de al menos 1 vez, a al menos 50 veces, o al menos 1 vez, a al menos 20 veces, incluyendo aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 veces mayor que una composición sin extracto de grosella negra, como una composición que comprende *extracto de Uncaria tomentosa* y extracto de té oolong como únicos agentes activos. En algunas modalidades, la solubilidad (p. ej., la solubilidad en agua o la solubilidad acuosa) aumenta en cualquiera de 1 a 50 veces, de 5 a 50 veces, de 5 a 40 veces, de 5 a 30 veces, de 5 a 20 veces, de 10 a 50 veces, de 10 a 40 veces, de 10 a 35 veces, de 10 a 30 veces, de 10 veces a 25 veces y de 10 a 20 veces. Este es un descubrimiento sorprendente ya que el *extracto de Uncaria tomentosa* y el extracto de té oolong (especialmente un *extracto de Uncaria tomentosa*) son muy poco solubles en agua. La adición de extracto de grosella negra como tercer ingrediente, sorprendentemente, hace que la composición resultante que contiene los tres ingredientes sea muy soluble en agua y los ingredientes tengan un sabor mucho mejor (menos astringente y menos amargo). El hacer los ingredientes más solubles en agua con la adición de grosella negra también permite que el producto final proporcionado se convierta en una bebida, trago de bebida y/o producto para personas que no pueden tragar píldoras, comprimidos oblongos, comprimidos, cápsulas o similares.

Usos

[0109] Proporcionada en un aspecto, las composiciones descritas en la presente son útiles para el desarrollo de un suplemento de la cognición y la memoria, para inhibir, prevenir, reducir y/o eliminar "placas y/u ovillos" cerebrales en humanos.

[0110] Las composiciones descritas en la presente también benefician a perros y gatos de edad avanzada, que desarrollan "placas" cerebrales (y, en menor medida, "ovillos") y tienen demencia como se define en Disfunción Cognitiva Canina (CCD).

[0111] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente son complementos alimenticios para mascotas para perros de edad avanzada que reducen las "placas" de amiloide cerebral y mejoran la cognición, la memoria, la memoria a corto plazo, la atención y la concentración.

[0112] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente son complementos alimenticios para mascotas para gatos de edad avanzada que reducen las "placas" de amiloide cerebral y mejoran la cognición, la memoria, la memoria a corto plazo, la atención y la concentración.

[0113] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente se utilizan para tratar la formación, depósito, acumulación y/o persistencia de fibrillas de tau, tal como la que ocurre en las tauopatías. En algunas modalidades, las composiciones descritas en la presente se usan para tratar tauopatías para prevenir y/o tratar, por ejemplo, lesión cerebral traumática (TBI), conmociones

cerebrales (como se observa en la mayoría de los atletas y militares/soldados), trastornos de estrés postraumático, traumatismo craneoencefálico, golpes en la cabeza (únicos o repetidos) y encefalopatía traumática crónica (CTE).

[0114] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente son inhibidores y/o reductores efectivos de los "ovillos" cerebrales, como los que se encuentran en personas con lesión cerebral traumática (TBI), conmociones cerebrales (como se observa en la mayoría de los atletas y militares/soldados), trastornos por estrés postraumático, traumatismo craneoencefálico, golpes en la cabeza (únicos o repetidos) y encefalopatía traumática crónica (CTE).

[0115] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente inhiben y/o previenen eficazmente la formación de fibrillas de amiloide, previenen y/o inhiben el crecimiento de fibrillas de amiloide, y/o provocan la disolución y/o disgregación de fibrillas de amiloide preformadas.

[0116] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente previenen y/o inhiben la formación de fibrillas de tau (importante para sujetos con tauopatía en etapa temprana a media), inhiben el crecimiento de fibrillas de tau (importante para sujetos con tauopatía en etapa temprana a media) y/o causa la disolución/disgregación de las fibrillas de tau preformadas (importante para la tauopatía en etapa tardía).

[0117] En otro aspecto, las composiciones descritas en la presente inhiben la formación de fibrillas de tau, inhiben el crecimiento de fibrillas de tau, inhiben las interacciones de fibrillas de tau con proteoglicanos, inhiben las interacciones de fibrillas de tau con proteoglicanos y/o glicosaminoglicanos y provocan la disolución y/o disgregación de las fibrillas de tau preformadas.

Métodos

[0118] También se proporciona en otro aspecto un método para el tratamiento de la amiloidosis en un mamífero que lo necesita, que comprende administrar al mamífero que lo necesita cualquiera de las composiciones descritas en la presente. En algunas modalidades, la amiloidosis es enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, demencia pugilística, síndrome de disfunción cognitiva, disfunción cognitiva canina, atrofia multisistémica, miositis por cuerpos de inclusión, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés, enfermedad de Nieman-Pick tipo C, angiopatía amiloide cerebral, demencia asociada con degeneración basal cortical, amiloidosis de diabetes tipo 2, amiloidosis de inflamación crónica, amiloidosis asociada a cáncer y fiebre mediterránea familiar, amiloidosis de mieloma múltiple y discrasias de linfocitos B, amiloidosis de enfermedades priónicas, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, Síndrome de Gerstmann-Straussler, kuru, encefalopatía espongiiforme, amiloidosis asociada con el síndrome del túnel carpiano, amiloidosis cardíaca senil, polineuropatía amiloidótica familiar o amiloidosis asociada con tumores endocrinos.

[0119] En otro aspecto, también se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de fibrillas de amiloide, que comprende tratar las fibrillas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0120] En otro aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de placas que contienen beta-amiloides, que comprende tratar las placas con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0121] En otro aspecto se proporciona un método para el tratamiento de una tauopatía en un ser humano o mamífero que lo necesite, que comprende administrar al ser humano o mamífero que lo necesite con cualquiera de las composiciones descritas en la presente. En algunas modalidades, la tauopatía es enfermedad de Alzheimer, degeneración lobular frontotemporal con esas inclusiones (FLTD-tau), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, enfermedad del grano argirófilo, enfermedad priónica, complejo de esclerosis lateral amiotrófica-parkinsonismo-demencia de Guam (también llamada enfermedad de Lytico Bodig), enfermedad de Parkinson, demencia- con predominio de ovillos, ganglioma, ganglioglioma, gangliocitoma, meningiomatosis, panencefalitis esclerosante subaguda, encefalopatía por plomo, esclerosis tuberosa, enfermedad de Hallervorden-Spatz, lipofuscinosis, lesiones cerebrales traumáticas (TBI), encefalopatía traumática del cerebro (CTE), demencia pugilística, conmoción cerebral, golpes únicos o repetidos en la cabeza o trastorno de estrés postraumático.

[0122] En un aspecto, se proporciona un método para tratar la formación, depósito, acumulación o persistencia de ovillos que contienen proteínas tau, que comprende tratar los ovillos con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0123] En un aspecto, se proporciona un método para mejorar el rendimiento cognitivo y/o ralentizar el deterioro cognitivo en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente para reducir la formación, depósito, acumulación o persistencia de placas de proteína beta-amiloide o fibrillas en el sujeto.

[0124] En un aspecto, se proporciona un método para mejorar el rendimiento cognitivo y/o ralentizar el deterioro cognitivo en un sujeto que sufre de una enfermedad amiloide, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente para reducir la formación, depósito, acumulación o persistencia de placas de proteína beta-amiloide o fibrillas en el sujeto.

[0125] También se proporciona en un aspecto un método para mejorar el aprendizaje, la memoria, la cognición, la atención y/o la concentración en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0126] En un aspecto se proporciona un método para mejorar el aprendizaje, la memoria, la cognición, la atención y/o la concentración en un sujeto con deterioro de la memoria asociado a la

edad (AAMI), deterioro cognitivo leve (MCI) o enfermedad de Alzheimer que comprende administrar al sujeto con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0127] En otro aspecto se proporciona un método para inhibir, prevenir, reducir o tratar los ovillos en el cerebro de un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0128] En un aspecto se proporciona un método para prevenir, reducir o tratar los ovillos en el cerebro de un sujeto que ha experimentado conmociones cerebrales únicas o múltiples, lesión cerebral traumática (TBI), golpes en la cabeza, encefalopatía traumática crónica (CTE), trastorno de estrés postraumático, envejecimiento cerebral, deterioro cognitivo leve o enfermedad de Alzheimer que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0129] En un aspecto se proporciona un método para inhibir, prevenir, reducir o tratar las placas en el cerebro de un sujeto que lo necesite, que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0130] En un aspecto, se proporciona un método para prevenir, reducir o tratar placas y ovillos en el cerebro de un perro o gato envejecido, comprendiendo el método tratar las placas y los ovillos con cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0131] En un aspecto, se proporciona un método para mejorar el rendimiento cognitivo y/o ralentizar el deterioro cognitivo en un perro o gato envejecido que sufre de formación, depósito, acumulación y/o persistencia de placas y ovillos en el cerebro, que comprende administrar al perro o gato envejecido cualquiera de las composiciones descritas en la presente.

[0132] En un aspecto se proporciona un método para mejorar el rendimiento deportivo en un sujeto mediante la inhibición o reducción de los ovillos en el cerebro que comprende administrar al sujeto cualquiera de las composiciones descritas en la presente. En algunas modalidades, el sujeto es un atleta.

Dosis

[0133] En algunas modalidades, las composiciones tienen una cantidad terapéuticamente eficaz de la combinación de extracto de grosella negra, un extracto de té oolong y extracto de *Uncaria tomentosa*, en una dosificación en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal del sujeto, y más preferiblemente en el intervalo de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del sujeto.

[0134] Sin embargo, se entenderá que la dosis terapéutica administrada la determinará el médico a la luz de las circunstancias relevantes, incluida la afección clínica que se va a tratar, el órgano o tejidos afectados o que se sospecha que están afectados por la acumulación de fibrillas de tau, y la

vía de administración elegida. Por lo tanto, los intervalos de dosificación anteriores no pretenden limitar el alcance de la invención de ninguna manera.

[0135] El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un portador farmacéutico adecuado.

Administración

[0136] En general, las composiciones descritas en la presente se realizan mediante cualquiera de los modos habituales conocidos en la técnica. La administración puede ser por una de las siguientes vías: oral, tópica y sistémica (por ejemplo, transdérmica, intranasal o por supositorio) o parenteral (por ejemplo, inyección intramuscular, subcutánea o intravenosa). En algunas modalidades, las composiciones se administran por vía oral, como en cápsulas orales, preparaciones de bebidas, inyecciones de bebidas o cualquier otro método, o mediante aerosol o en una forma inyectable o infusible por vía parenteral.

[0137] En algunas modalidades, las composiciones se administran por vía oral en forma de un trago de bebida. Un trago de bebida como se usa en la presente es una bebida que contiene una cualquiera de las composiciones descritas en la presente en una pequeña cantidad de líquido (tal como aproximadamente 50 ml). O, en otras palabras, un trago de bebida es una bebida concentrada.

Formulaciones

[0138] En algunas modalidades, el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té Oolong se formulan en una forma de dosificación única. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té Oolong se formulan en una forma de dosificación única. En algunas modalidades, el extracto de grosella negra, el extracto de *Uncaria tomentosa* y el extracto de té Oolong se formulan en una forma de dosificación única.

[0139] Las composiciones pueden tomar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, semisólidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, soluciones, bebidas, tragos de bebidas, suspensiones, elixires, aerosoles o cualquier otra composición apropiada, y comprenden al menos un excipiente, portador, o diluyente. Los excipientes, portadores y diluyentes adecuados son bien conocidos por los expertos en la técnica. Los métodos de formulación de las composiciones, se pueden encontrar en referencias estándar como Alfonso AR: Remington Pharmaceutical Sciences, ^{17a} Ed, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985. Los portadores líquidos adecuados, especialmente para soluciones inyectables, incluyen agua, solución salina acuosa, solución acuosa de dextrosa y glicoles.

[0140] En particular, el (los) compuesto(s) se puede(n) administrar por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, pastillas, grageas, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, comprimidos efervescentes disolventes, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes o elixires. En una realización, solo se administra uno de tales compuestos en cualquier forma de dosificación particular. Las composiciones destinadas a uso oral se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones de productos nutracéuticos y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones deliciosamente elegantes y apetitosas.

[0141] En algunas modalidades, los componentes de las composiciones se obtienen comercialmente en cualquier forma adicional en la que puedan ser modulados utilizando portadores, excipientes y diluyentes adecuados, incluyendo lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma acacia, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, solución salina, jarabe, metilcelulosa, metil y propilhidroxibenzoatos, talco, estearato de magnesio y aceite mineral. Las formulaciones pueden incluir, adicionalmente, agentes lubricantes, agentes humectantes, agentes de suspensión y emulsionantes, agentes conservantes y agentes endulzantes o agentes saborizantes. Las composiciones de la invención pueden formularse para proporcionar una respuesta rápida, sostenida o retardada del ingrediente activo después de la administración al sujeto.

[0142] Los comprimidos que contienen los extractos descritos en la presente mezclados con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Estos excipientes incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón de maíz, gelatina o goma arábiga; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio o ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden no estar recubiertos o pueden recubrirse mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo de tiempo tal como monoestearato de glicerol o diestearato de glicerol. Las formulaciones para uso oral también se pueden preparar como cápsulas de gelatina dura en las que los compuestos se mezclan con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda, en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

[0143] Las suspensiones acuosas contienen el compuesto mezclado con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes incluyen, por ejemplo, agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma arábica; y agentes dispersantes y humectantes que son fosfátidos de origen natural, por ejemplo lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos; por ejemplo estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetilenoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos como hexitol, por ejemplo monooleato de polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales de ácidos grasos y un anhídrido de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietilensorbitán. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y/o uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

[0144] Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los extractos en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de aracas, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral como la parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina de manos o alcohol cetílico. Se pueden añadir agentes edulcorantes, como los que se exponen a continuación, y agentes aromatizantes para proporcionar una preparación oral agradable. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante como el ácido ascórbico.

[0145] Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan los ingredientes activos mezclados con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión adecuados se ejemplifican por los ya descritos anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, edulcorantes, aromatizantes y agentes.

[0146] Las composiciones también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa de un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida, o mezclas de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales, por ejemplo, goma arábica o goma tragacanto, fosfátidos naturales, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, ésteres de sorbitán con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polietilensorbitán. La emulsión también puede contener agentes

edulcorantes y aromatizantes. Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes.

[0147] Los siguientes Ejemplos no limitantes se dan a modo de ilustración solamente y no se consideran una limitación de esta descripción, muchas variaciones aparentes de las cuales son posibles sin apartarse del espíritu o alcance de la misma.

EJEMPLOS

[0148] La presente invención se ilustra de manera adicional mediante los Ejemplos que siguen a continuación, los cuales no deberían considerarse como taxativos. Los siguientes Ejemplos demuestran la preparación, caracterización y uso de las composiciones descritas en la presente.

Composición - Preparación de componentes

[0149] Para estos estudios, el extracto de té oolong se preparó de acuerdo con el siguiente procedimiento. Para hacer extractos de té a partir de hojas de té, se extrajeron 2 g de hojas de té en agua desionizada a 100 °C durante 20 min con mezcla ocasional. Los extractos de té se filtraron a través de un filtro de corte menor a 10 µm para eliminar las partículas grandes. Los extractos se congelaron rápidamente en hielo seco/etanol y luego se liofilizaron para obtener un polvo concentrado seco. El polvo seco se pesó y se resuspendió en DMSO para preparar soluciones madre concentradas de 100 mg/ml. Las soluciones madre se diluyeron en reacciones de agregación de modo que la concentración de DMSO fuera inferior al 0,28 % en la reacción final.

[0150] El extracto de té oolong se preparó a partir de té oolong obtenido de las montañas Guan Yin de China (MemorTea®; AuNutra Industries Inc., Chino, Calif.). El PTI-00703® es un extracto en polvo elaborado a partir de la extracción de agua de la corteza interna de *Uncaria tomentosa* obtenida de la selva amazónica. Se han descrito métodos para preparar PTI-00703®, por ejemplo, en la Publicación Internacional de la OMPI N° W098/51302. El extracto de grosella negra que contiene un 25 % de antocianinas es un extracto en polvo preparado a partir de la fruta de grosella negra europea (fruta de Cassis) y se obtiene de Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey. Los extractos etanólicos de grosella negra, té oolong y/o *Uncaria tomentosa* están dentro del alcance de esta descripción.

[0151] La composición A que contiene extracto de té oolong, extracto de *Uncaria tomentosa* y extracto de grosella negra (25 % de antocianinas) se prepara como sigue. El extracto de *Uncaria tomentosa* (PTI-00703®) se granuló primero usando goma arábiga como agente aglutinante para proporcionar 206 mg de extracto de *Uncaria tomentosa* granulado (187,5 mg de uña de gato). Luego se añadió una cantidad igual de un extracto de té oolong (187,5 mg) seguido de 50 mg de extracto de grosella negra (25 % de antocianinas) para proporcionar la composición de prueba.

Ejemplo 1: Disgregación/inhibición de fibrillas o agregados A β de Alzheimer

[0152] Se encontró que las composiciones descritas en la presente eran potentes disgregadores/inhibidores de fibrillas o agregados de proteína A β . Este ejemplo estudia la eficacia de las composiciones para provocar el desensamblaje/destrucción/disgregación de fibrillas de amiloides preformadas de la enfermedad de Alzheimer (es decir, que consisten en A β 1-42).

Parte A: Fluorometría de tioflavina T

[0153] En este estudio, se utilizó fluorometría de tioflavina T para determinar los efectos de las composiciones. La tioflavina T se une específicamente al amiloide fibrilar y esta unión produce un aumento de la fluorescencia a 485 nm que es directamente proporcional al número de fibrillas de amiloide formadas. Cuanto mayor es la fluorescencia, mayor es el número de fibrillas de amiloides formadas. (Nakai *et al.*, *Lab. Invertir.* 65: 104-110, 1991; Levine III, *Protein Sci.* 2: 404-410, 1993; *Amiloide: Int. J. Exp. Clin. Invertir.* 2: 1-6, 1995).

[0154] En este estudio, se incubaron 40 μ l de una solución de 1 mg/ml (en agua destilada) o A β 1-42 humano prefibrilizado (péptido r) a 37 ° C durante 3 días, ya sea solo (control) o en presencia de cualquiera de las composiciones descritas en la presente (a A β : proporciones en peso de la composición de prueba de 1:1, 1:0,1, 1:0,01 y 1:0,001). La concentración final de A β en la reacción fue de 0,4 mg/ml (88 μ M) en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4 + azida sódica al 0,02 % en 100 μ l de volumen final. Después de 3 días de incubación, se transfirieron 12,5 μ l de cada mezcla de incubación a una placa de microtitulación de 96 pocillos que contenía 37,5 μ l de PBS y 200 μ l de una solución de tioflavina T (es decir, 125 μ M de tioflavina T en tampón de fosfato 62,5 mM, pH 6.8). La fluorescencia de emisión se leyó a 485 nm (longitud de onda de excitación de 444 nm) utilizando un fluorómetro de placa ELISA después de realizar la sustracción solo con tampón o solo como composición, como muestra en blanco.

[0155] En el primer conjunto de estudios, se probaron las siguientes composiciones:

Composición N.º	Componentes
11.1	Extracto de té Oolong (MemorTea®) + Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) (1:1)
11.2	Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®)
11.3	Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> peruana (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)

11.4	Vision Smart Supreme® (contiene 210 mg de antocianinas de extracto de grosella negra cada 2 cápsulas; Vision Smart Center, Los Ángeles, CA)
11.5	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) con 25 % de antocianinas (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)
11.6	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) con 15 % de antocianinas (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)
11.7	Prevagen® (contiene 10 mg de apoequorina por cada cápsula; Quincy Bioscience, Madison, W.I.)

[0156] La **FIG. 11** muestra los resultados de la incubación de 3 días con las siguientes composiciones: Composición 11.1; Composición 11.2; Composición 11.3; Composición 11.4, Composición 11.5, Composición 11.6 y Composición 11.7.

[0157] La incubación de A β 1-42 con 11,5 (extracto de grosella negra con 25 % de antocianinas provocó un desensamblaje/disgregación/destrucción de las fibrillas preformadas de A β 1-42 dependiente de la dosis. También se observó que el porcentaje de desintegración fue significativamente mayor con 11,5 en comparación con 11,4 (extracto de grosella negra con 15 % de antocianinas).

[0158] En el segundo conjunto de estudios, se probaron las siguientes composiciones:

Composición N.º	Componentes
18.1	Extracto de té Oolong (MemorTea®) + Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) (1:1)
18.2	Extracto granulado de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703® con goma de acacia; Vitaquest, West Caldwell, NJ)
18.3	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) con 15 % de antocianinas (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)
18.4	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) (NP Nutra, Gardena, CA).

18.5	Brian Pill™ (contiene citicolina, bacopa monnieri, huperzina A, vinpocetina, ginkgo biloba, vitamina B12, vitamina B6, complejo DHA, fosfatidilserina, tirosina, L-teanina, vitamina B5 y vitamina B9; Leading Edge Health, Elizabethton, TN).
18.6	Forebrain® (contiene extracto de bacopa, extracto de uva (<i>Vitis vinifera</i>), cafeína de liberación prolongada, vincamina, musgo abeto y extracto de fruta de pimienta negra; Force Factor LLC)
18.7	Prevagen® (contiene 10 mg de apoaquorina por cada cápsula; Quincy Bioscience, Madison, W.I.)

[0159] La FIG. 12 muestra los resultados de la incubación de 3 días con las siguientes composiciones: Composición 18.1; Composición 18.2; Composición 18.3; Composición 18.4, Composición 18.5, Composición 18.6 y Composición 18.7.

[0160] En el tercer conjunto de estudios, se probaron las siguientes composiciones:

Composición N.º	Componentes
19.1	Extracto de té Oolong (MemorTea®) + Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) (1:1)
19.2	Extracto granulado de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703® con goma de acacia; Vitaquest, West Caldwell, NJ)
19.3	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) con 25 % de antocianinas (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)
19.5	Composición A
19.6	Tru Niagen® (contiene 250 mg de cloruro de ribósido de nicotinamida por cada 2 cápsulas; ChromaDex, Inc., Irvine, CA)
19.7	Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) + Tru Niagen® (1: 1)
19.8	Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) + Tru Niagen® (1:0.25)

19.9	Prevagen® (contiene 10 mg de apoeaquorina por cada cápsula; Quincy Bioscience, Madison, W.I.)
------	---

[0161] La **FIG. 13** muestra los resultados de la incubación de 3 días con las siguientes composiciones: Composición 19.1; Composición 19.2; Composición 19.3; Composición 19.5, Composición 19.6, Composición 19.7, Composición 19.8 y Composición 19.9.

[0162] En el cuarto conjunto de estudios, se probaron las siguientes composiciones:

Composición N.º	Componentes
21.1	Extracto de té Oolong (MemorTea®) + Extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) (1:1)
21.2	Extracto granulado de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703® con goma de acacia; Vitaquest, West Caldwell, NJ)
21.3	Polvo de extracto de grosella negra (<i>Ribes Nigrum</i>) con 25 % de antocianinas (Vitaquest, West Caldwell, Nueva Jersey)
21.5	Composición A
21.6	Extracto de té Oolong (MemorTea®) + extracto de <i>Uncaria tomentosa</i> (PTI-00703®) (1:1) (Makers Nutrition, Hauppauge, NY)
21.7	Prevagen® (contiene 10 mg de apoeaquorina por cada cápsula; Quincy Bioscience, Madison, W.I.)

[0163] La **FIG. 14** muestra los resultados de la incubación de 3 días con las siguientes composiciones: Composición 21.1; Composición 21.2; Composición 21.3; Composición 21.5, Composición 21.6 y Composición 21.7. Estos resultados mostraron que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, es un potente disgregador/inhibidor de las fibrillas de tipo A β de la enfermedad de Alzheimer y ejerció su efecto de manera dependiente de la dosis.

[0164] En otro estudio para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, se incubaron 40 μ l de una solución de 1 mg/ml (en agua destilada) o A β 1-42 humano prefibrilizado (péptido r) a 37 °C durante 3 días ya sea solo (control) o en presencia de LOTE + PTI-00703® (en

la composición de prueba: proporciones en peso de A β de 1:1 y 1:0,1) (denominado “Cognitive Clarity™”). La concentración final de A β en la reacción fue de 0,4 mg/ml (88 μ M) en solución salina tamponada con fosfato (PBS), pH 7,4 + azida sódica al 0,02 % en 100 μ l de volumen final. Después de 3 días de coincubación, se transfirieron 12,5 μ l de cada mezcla de incubación a una placa de microtitulación de 96 pocillos que contenía 37,5 μ l de PBS y 200 μ l de una solución de tioflavina T (es decir, 125 μ M de tioflavina T en tampón de fosfato 62,5 mM, pH 6.8). La fluorescencia de emisión se leyó a 485 nm (longitud de onda de excitación de 444 nm) utilizando un fluorómetro de placa ELISA después de realizar la sustracción solo con tampón o solo como composición, como muestra en blanco.

[0165] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, los resultados de las incubaciones de 3 días se presentan en la **FIG. 1**. La incubación de A β 1-42 con “Cognitive Clarity” (es decir, la combinación de LOTE + PTI-00703®) provocó una destrucción/desensamblaje/disgregación dependiente de la dosis de fibrilla preformadas de A β 1-42. A una relación composición de prueba:peso de A β de 0,1:1 LOTE + PTI-00703 inhibió las fibrillas en un 62,8 %. A equivalentes de peso iguales (relación composición de ensayo:peso de A β de 1:1) hubo una inhibición del 93,6 % de la fluorescencia de la tioflavina T. Este estudio demostró que la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato es un potente disgregador/inhibidor de las fibrillas de tipo A β de la enfermedad de Alzheimer y ejerce su efecto de manera dependiente de la dosis.

Parte B: Rojo Congo

[0166] En el ensayo de unión al rojo Congo, se cuantifica la capacidad de una composición de prueba para alterar la unión del β -amiloide al rojo Congo. En este ensayo, A β 1-42 (preparado para el ensayo de tioflavina T) se incubaba durante 3 días solo (control) o con cantidades crecientes de las composiciones de ensayo y luego se filtra al vacío a través de un filtro de 0,2 μ m. La cantidad de A β 1-42 retenida en el filtro se cuantifica después de la tinción del filtro con rojo Congo (rojo Congo 125 μ M, Tris 100 mM, NaCl 50 mM, pH 7). Después de lavar apropiadamente el filtro, cualquier disminución del color rojo Congo en el filtro en presencia de la composición de prueba (en comparación con la tinción con rojo Congo de la proteína amiloide en ausencia de la composición de prueba) es indicativa de la capacidad de la composición de prueba para disminuir/alterar la cantidad de A β agregado y congófilico. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhiba la unión de A β al rojo Congo.

[0167] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la capacidad de las fibrillas de A β para unirse al rojo Congo en ausencia o presencia de cantidades crecientes de LOTE + PTI-00703® (en la composición de prueba: proporciones de peso de A β de 1:1, y 0,1:1). Los

resultados de las incubaciones de 3 días se presentan en la **FIG. 1**. LOTE + PTI-00703® provocó una inhibición dependiente de la dosis de la unión de A β al rojo Congo. A una relación composición de prueba:peso de A β de 0,1:1, LOTE + PTI-00703® inhibió la unión del rojo Congo en un 20,9 % ($p < 0,001$). Con equivalentes de igual peso (relación composición de prueba:A β en peso de 1:1) hubo una inhibición del 58,6 % ($p < 0,001$) de la unión del rojo Congo.

[0168] De manera similar a los resultados del ensayo de unión al rojo Congo, este estudio también indicó que esta combinación de un extracto principal de té oolong específico (LOTE) y PTI-00703® son potentes disgregadores/inhibidores de las fibrillas A β según lo evaluado por un ensayo de fluorometría de tioflavina T, y ejerció sus efectos de una manera dependiente de la dosis (**FIG. 1**). La combinación de LOTE + PTI-00703® provocó una reducción dependiente de la dosis de la unión de tioflavina T (que indica disgregación/reducción de las fibrillas de A β) en un 70 % ($p < 0,001$) a una relación composición de prueba:A β en peso de 0,1:1 (**FIG. 1**), y en un 95 % a una relación composición de prueba:A β en peso de 1:1 (**FIG 1**).

Parte C: Unión con rojo Congo en portaobjetos, tioflavina S y microscopía electrónica

[0169] En el ensayo de rojo Congo basado en portaobjetos, el colorante rojo Congo se incubaba con A β 1-42, se puntea en un portaobjetos y se obtienen imágenes bajo luz polarizada. Las fibrillas de amiloide unidas por el rojo Congo emiten una característica "birrefringencia verde manzana" bajo luz polarizada. En este estudio, 0,4 mg/ml de A β 1-42 prefibrilizado (preparado para el ensayo de tioflavina T) con o sin composiciones de prueba se incuban durante 3 días. Se añaden 10 μ l de solución de rojo Congo (250 mg de colorante rojo Congo (54 % puro; Sigma) disuelto en 1 l de dH₂O) a 10 μ l de composiciones de ensayo A β 1-42 +/- y se mezcla mediante agitación vorticial durante 30 segundos. Las muestras se incuban durante 10 minutos a temperatura ambiente con una solución de rojo Congo. A continuación, las muestras se centrifugan a 2000 g durante 3 minutos y se eliminan 10 μ l de sobrenadante. Se añaden 2 μ l de glicerol al sedimento y se mezcla pipeteando hacia arriba y hacia abajo 15 veces. La muestra se agita en vórtex y luego se colocan 10 μ l de proteína teñida en portaobjetos azules esterilizables en autoclave HTC® de 18 pocillos de 5MM. Las muestras se cubren con pequeños cubreobjetos circulares y luego se toman imágenes inmediatamente bajo luz polarizada. Las imágenes se capturan con un microscopio Zeiss Axioscope 2 Plus con iluminador HBO 100 equipado con una cámara digital Q-Imaging Retiga 1300. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, reduzca y disgregue/disuelva las fibrillas preformadas A β 1-42.

[0170] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la **FIG. 2A** (panel izquierdo), una imagen representativa muestra que A β 1-42 no tratado tiene birrefringencia verde manzana característica y abundante proteína fibrilar distribuida uniformemente a través del campo de visión. En la **FIG. 2A** (panel derecho) el tratamiento con LOTE + PTI-00703 (relación en peso con

A β 42 0,1:1) resultó en sustancialmente menos fibrillas teñidas con rojo Congo, lo que demuestra que la combinación de extracto de planta puede reducir y disgregar/disolver fibrillas preformadas de A β 1-42.

[0171] Al igual que la tioflavina T, la tioflavina S es un colorante aniónico relacionado que se une a las proteínas amiloides fibrilares y se puede utilizar para detectar proteínas fibrilares unidas a un portaobjetos de microscopio de vidrio. En este estudio, A β 1-42 prefibrilizado (preparado para el ensayo de tioflavina T) con o sin composiciones de prueba se incubó durante 3 días. Se colocan 4 μ l de composiciones de ensayo de 0,4 mg/nada de A β 1-42 +/- sobre portaobjetos azules esterilizables en autoclave HTC(R) de **18 pocillos de 5 mm**. Las muestras se dejan secar al aire durante 2 horas. Se aplican suavemente 10 μ l de solución de tioflavina S (31 mg de tioflavina S disuelta en 50 ml de dH₂O) a la proteína seca en los portaobjetos. La proteína se tiñe durante 1 minuto, luego la solución de tioflavina se elimina con una pipeta. Se pipetea suavemente 40 μ l de una solución de etanol al 70 % sobre la proteína teñida durante 1 minuto para enjuagar. Esta solución se elimina suavemente con una pipeta. Se aplican 2 μ l de medio de montaje Vectashield (Vector) a la proteína teñida y luego se cubren con cubreobjetos circulares. Las imágenes se capturan con un microscopio Zeiss Axioscope 2 Plus con iluminador HBO 100 equipado con una cámara digital Q-Imaging Retiga 1300. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, reduzca sustancialmente las fibrillas fluorescentes de tioflavina S.

[0172] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la **FIG. 2B** (panel izquierdo), una imagen representativa de A β 1-42 sin tratar muestra abundantes fibrillas fluorescentes de tioflavina S distribuidas uniformemente a través del campo de visión. Las fibrillas preformadas de A β 1-42 incubadas con LOTE + PTI-00703® (a una relación en peso de 0,1:1 con A β 1-42) durante 72 horas mostraron una reducción sustancial de las fibrillas fluorescentes (Figura 2B, panel derecho). En la **FIG. 2B** (panel derecho), las imágenes representativas muestran que con el tratamiento LOTE + PTI-00703, las fibrillas fluorescentes de tioflavina S desaparecieron.

[0173] El análisis de microscopía electrónica (EM) de tinción negativa se utiliza para controlar de forma independiente la eficacia de diferentes composiciones para romper las fibrillas de A β preformadas. En estos experimentos, las fibrillas preformadas de A β 1-42 (preparadas para el ensayo de tioflavina T) se incuban en ausencia (control) o presencia de concentraciones crecientes de las composiciones de prueba. Después de la incubación de 3 días, se colocan muestras de 10 μ l en rejillas, se tiñen con acetato de uranilo al 2 % y se visualizan con aumentos de 8 000 $\times$ a 30 000 $\times$ con un microscopio electrónico de transmisión JEOL 1010. Se espera que el análisis EM muestre que el tratamiento de la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, reducirá significativamente y disolverá el número de

fibrillas A β agrupadas. Se espera que estos estudios demuestren que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, es un potente disgregador/inhibidor de A β .

[0174] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la **FIG. 2C** (panel inferior), el análisis EM confirmó la formación de fibrillas A β en ausencia de tratamiento (es decir, **Fig. 2C**, Control). Sin tratamiento (**2C**, panel izquierdo), se formaron fibrillas A β grandes agrupadas que cubrieron uniformemente el campo. Estas muestras también se analizaron mediante el ensayo de tioflavina T y se confirmó que eran fibrillas positivas para fluorescencia de tioflavina T. En presencia de LOTE + PTI-00703® (Figura 2C, panel derecho), el número de fibrillas A β agrupadas se redujo significativamente y se disolvió. Estos resultados se correlacionan bien con los datos de fluorimetría de tioflavina T que mostraron una reducción en la fluorescencia de tioflavina T con el tratamiento y los datos de unión al rojo Congo que mostraron una reducción en la unión del rojo Congo con el tratamiento. Utilizando estas metodologías independientes, hemos identificado y validado el principal extracto de té oolong (LOTE) en combinación con PTI-00703® (es decir, LOTE + PTI-00703®) como potentes disgregadores/inhibidores de A β .

Ejemplo 2: Inhibición/disgregación de la conversión *in vitro* de A β a estructuras de fibrillas que contienen láminas β Parte A: Fluorimetría de tioflavina T

[0175] Para probar si las composiciones descritas en la presente pueden inhibir la formación de lámina β de A β , se utiliza el mismo ensayo de tioflavina T que se describe en el Ejemplo 1, pero con A β 1-40 como sustrato en su lugar. De manera similar a A β 1-42, A β 1-40 forma agregados positivos para tioflavina T pero requiere una incubación mayor a 24 horas a 37 °C con agitación para volverse completamente fibrilar. Dado que A β 1-40 se encuentra en un estado no fibrilar al comienzo del ensayo, esta proteína puede agregarse en presencia de composiciones para medir la inhibición de la agregación. Se disuelve A β 1-40 humano liofilizado (péptido r) a 1 mg/ml (220 μ M) en dH₂O. En tubos de ensayo separados, las reservas de composición de prueba se preparan en PBS a distintas concentraciones de modo que las reacciones finales que contienen volúmenes iguales de las reservas de la composición de prueba y la solución de A β darían como resultado una concentración final de A β de 0,5 mg/ml (110 μ M) con las relaciones composición de prueba:A β en peso de 1:1, 0,5:1, 1:1 y 0,2:1. Las reacciones que contienen las composiciones de prueba A β + (o A β + PBS como control para la agregación de A β) se incuban luego durante 2 días. Las mezclas de incubación se diluyen 1:10 a 0,05 mg/ml. Se transfieren A β y 50 μ L de cada mezcla de incubación diluida a una placa de microtitulación de 96 pocillos que contiene 200 μ L de solución de tioflavina T (es decir, tioflavina T 125 μ M en tampón de fosfato 62,5 mM, pH 6,8). La fluorescencia de emisión se leyó a 485 nm (longitud de onda de excitación de 444 nm) utilizando un fluorómetro de placa ELISA después de realizar la sustracción solo con tampón de PBS o solo como composición, como muestra

en blanco. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhiba la formación de láminas β de A β . Específicamente, se espera que este estudio muestre que la Composición A es un potente inhibidor de la formación de fibrillas de A β rico en lámina β según lo evaluado por fluorometría de tioflavina T, y puede ejercer su efecto de manera dependiente de la dosis.

[0176] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, se evaluó el LOTE + PTI-00703® en otro estudio. Los resultados de este estudio presentados en la **FIG. 3** indican que LOTE + PTI-00703® de esta invención interfería con la agregación de A β como lo indica su capacidad para prevenir la formación de fibrillas según lo evaluado por fluorometría de tioflavina T. A una relación composición de prueba:A β en peso de 0,2:1 LOTE + PTI-00703® inhibió las fibrillas en un 14,1 % y en 0,5:1 LOTE + PTI-00703® inhibió las fibrillas en un 73 % ($p < 0,001$). Con equivalentes de igual peso (relación composición de ensayo:A β en peso de 1:1) hubo una inhibición del 89,3 % ($p < 0,001$) de la fluorescencia de la tioflavina T. Este estudio indicó que LOTE + PTI-00703® es un potente inhibidor de la formación de fibrillas de A β rico en láminas β según lo evaluado por fluorometría de tioflavina T, y esta combinación ejerce su efecto de una manera dependiente de la dosis.

Parte B: Rojo Congo

[0177] Para probar si las composiciones descritas en la presente pueden inhibir la formación de lámina β de A β , se utiliza el mismo ensayo de rojo Congo que se describe en el Ejemplo 1, pero con A β 1-40 como sustrato en su lugar. En este ensayo, A β 1-40 (preparado para el ensayo Tio T) y las composiciones de ensayo se incuban durante 2 días y luego se filtran al vacío a través de un filtro de 0,2 μm . La cantidad de A β 1-40 retenida en el filtro se cuantifica después de la tinción del filtro con rojo Congo (125 μM de rojo Congo, 100 mM de Tris, 50 mM de NaCl, pH 7). Después de lavar apropiadamente el filtro, cualquier disminución del color rojo Congo en el filtro en presencia de la composición de prueba (en comparación con la tinción con rojo Congo de la proteína amiloide en ausencia de la composición de prueba) es indicativa de la capacidad de la composición de prueba para disminuir/alterar la cantidad de A β agregado y congofílico. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhiba la formación de láminas β de A β . Específicamente, se espera que este estudio demuestre que la Composición A es un potente inhibidor de las fibrillas A β según lo evaluado por la unión de las fibrillas A β al rojo Congo, y que puede ejercer su efecto de manera dependiente de la dosis.

[0178] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la capacidad de las fibrillas de A β para unirse al rojo Congo en ausencia o presencia de cantidades crecientes de LOTE + PTI-00703® (a relaciones composición de prueba:A β en peso de 1:1, 0,5:1 y 0,2:1) se determinó

en otro estudio. Los resultados de las incubaciones de 2 días se presentan en la **FIG. 3**. LOTE + PTI-00703® provocó una inhibición dependiente de la dosis de la unión de A β al rojo Congo. A una relación composición de prueba:A β en peso de 0,2:1 LOTE + PTI-00703 inhibió la unión del rojo Congo 41,7 % y 0,5:1 LOTE + PTI-00703® inhibió la unión del rojo Congo 62,5 % ($p < 0,001$). Con equivalentes de igual peso (relación composición de prueba:A β en peso de 1:1) hubo una inhibición del 83,3 % ($p < 0,001$) de la unión del rojo Congo. De manera similar a los resultados del ensayo de fluorometría de tioflavina T, este estudio también indicó que LOTE + PTI-00703® es un potente inhibidor de las fibrillas A β según lo evaluado por la unión de las fibrillas A β al rojo Congo, y ejerce su efecto de manera dependiente de la dosis.

Parte C: espectroscopia DC

[0179] La espectroscopia DC se realiza para determinar la potencia de las composiciones descritas en la presente para inhibir la formación de la estructura secundaria de lámina β de A β 1-40 en condiciones propensas a la agregación. Dado que la estructura de lámina β es característica de las fibrillas A β , el seguimiento de la estructura secundaria de la proteína puede proporcionar una prueba adicional de la eficacia de una composición para inhibir la agregación. Los espectros DC de las muestras de A β 1-40 con concentraciones crecientes de +/- de las composiciones se analizan a 25 °C en un espectropolarímetro JASCO Modelo J-810. Los ensayos de espectroscopia DC y TioT se analizan en paralelo a partir de la misma preparación de muestra para correlacionar los resultados de dos ensayos independientes. Se espera que el análisis de espectros DC muestre que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhibirá significativamente la formación anormal de A β en conjuntos fibrilares de láminas β y mantendrá A β 1-40 en una forma menos patógena.

[0180] Para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, se realizaron espectros DC de A β 1-40 tratados con LOTE + PTI-00703®. En la **FIG. 4**, los espectros DC de A β 1-40 tratados con LOTE + PTI-00703® indicaron una inhibición de fibrillas que contienen lámina β de manera dependiente de la dosis. Un mínimo de 218 nm indica la presencia de estructura de lámina β . Un cambio positivo de elipticidad a 218 nm indica menos estructura de lámina β . A una relación composición de prueba:A β en peso de 0,2:1 LOTE + PTI-00703® demostró un 30,9 % menos de estructura de lámina β sin tratar, 0,5:1 LOTE + PTI-00703® mostró un 53,9 % menos de estructura de lámina β que el control. Con equivalentes de igual peso (relación composición de prueba:A β en peso de 1:1) había 64,8 % menos de estructura de lámina β en comparación con el control. Estos datos verificaron que LOTE + PTI-00703® tiene una capacidad significativa para inhibir la formación anormal de A β en ensamblajes fibrilares de láminas β y mantiene A β 1-40 en una forma menos patógena.

Ejemplo 3: Uso del dominio de repetición de Tau recombinante para el cribado *in vitro* de inhibidores de la agregación de Tau

[0181] En estudios anteriores relacionados con el cribado *in vitro* para la identificación de inhibidores de la agregación de tau, los presentes inventores encontraron que, en las mismas condiciones experimentales, la formación de filamentos helicoidales emparejados (PHF) a partir de la proteína tau de longitud completa comprada comercialmente (Tau441; de rPeptide) fue mucho más lento (mayor a 11 días; no se muestran datos) que el del dominio de repetición tau (TauRD; que contiene Q244-E372 de Tau441) (≥ 24 h) (S. Barghorn *et al.*, *Methods Mol Biol*, 299: 35-51, 2005).

[0182] Debido al tiempo de respuesta notablemente corto y las propiedades de agregación comunes, se usó TauRD para el cribado *in vitro* de inhibidores de agregación de tau. Dado que la proteína TauRD no estaba disponible comercialmente, se preparó TauRD de acuerdo con el siguiente procedimiento, que también se describe en el documento US 2016/0250273, que se incorpora como referencia para la descripción de este procedimiento. Se clonó un fragmento de ADNc que codifica la TauRD humana en un vector de expresión bacteriano y luego se expresó la construcción en *E. coli*. A continuación, se seleccionaron para la purificación de proteínas clones bacterianos que demostraban altos niveles de expresión de TauRD. La proteína TauRD recombinante luego se purificó mediante tratamiento de estabilidad térmica y cromatografía de intercambio catiónico como se describe con modificaciones menores (S. Barghorn *et al.*, *Methods Mol Biol*, 299:35-51, 2005). Con este método se obtuvo un rendimiento de proteína de 20 mg por litro de cultivo bacteriano. La agregación y la formación de PHF de TauRD purificada se evaluaron y validaron mediante ensayos independientes que incluyen fluorometría de tioflavina S (TioS), un tinte que presenta fluorescencia después de unirse a fibrillas, espectroscopía de dicroísmo circular (DC), un método que detecta cambios en la estructura secundaria de proteínas y microscopía electrónica. Los resultados demuestran consistentemente que TauRD (10 μ M) es capaz de formar PHF TioS positivos que contienen láminas β cuando se incuban con heparina equimolar (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) a 37 °C, con agitación a 800-1000 rpm durante ≥ 1 día.

[0183] En la **FIG. 5A**, se purificó proteína TauRD (15 kDa) de *E. coli* y se evaluó mediante SDS-PAGE/tinción de plata con una pureza típica de mayor a 95 %. Se utilizó espectroscopia de DC para evaluar las proteínas TauRD agregadas y no agregadas, y las **FIG. 5B-C** son ejemplos de espectroscopia de CD de proteínas TauRD agregadas y no agregadas. Los agregados de TauRD se prepararon en presencia de proporciones equimolares (10 μ M) de TauRD y heparina en 20 mM de tampón de fosfato de sodio (pH 7,4), incubados a 37 °C con agitación durante 0-120 horas. En ausencia de heparina, los espectros de DC de TauRD no agregada eran una bobina aleatoria con mínimos de elipticidad a 195 nm (**Figura 5B**). En presencia de heparina, los espectros de DC

mostraron cambios conformacionales dependientes del tiempo de la proteína TauRD desde la bobina aleatoria (mínimos a 195 nm) en el tiempo 0 a lámina β (mínimos a 218 nm) a las 20-120 horas (**FIG. 5C**). La agregación de TauRD se controló mediante fluorimetría de TioS a lo largo del tiempo (**Figura 5D**). Los resultados muestran la formación de fibrillas de TauRD positivas para TioS después de 20 horas de incubación. En ausencia de heparina sin formación de fibrillas, las señales de TioS de TauRD fueron menores a 200 unidades arbitrarias (AU) de fluorescencia en todos los puntos de tiempo. La formación de fibrillas de Tau se confirmó mediante tinción negativa EM (**Figura 5E-G**), que mostró la formación de fibrillas de Tau después de 48 horas de incubación con heparina. Los monómeros de TauRD en el tiempo 0 se muestran en la **FIG. 5E** (Bar = 200 nm). La formación de fibrillas de TauRD a las 48 hora se muestra en las **FIG. 5F-G** (Bar = 50 nm). Se encontraron filamentos helicoidales solos y pareados.

Ejemplo 4: Identificación de nuevos inhibidores de la agregación de Tau mediante Cribado de Fluorimetría de Tioflavina S

[0184] Un método bien conocido para medir la formación de fibrillas es la fluorimetría de tioflavina T (TioT) (H. Naiki *et al.*, Lab. Invertir. 65:104-110, 1991; H. Levine III, *Protein Sci.* 2:404-410, 1993; H. Levine III, *Amyloid* 2: 1 - 6, 1995; H. Naiki y K. Nakakuki, *Lab. Invest.* 74:374-383, 1996). Se sabe que la TioT se une a proteínas fibrilares y un aumento de la fluorescencia se correlaciona con un aumento de la formación de fibrillas, mientras que una disminución de la fluorescencia se correlaciona con una disminución de las fibrillas debido al desensamblaje y/o disgregación. El ensayo se modifica reemplazando la TioT con Tioflavina S (TioS), un colorante aniónico relacionado con propiedades similares, porque se ha demostrado que este último es más sensible y reproducible para cuantificar los PHF de Tau (datos no mostrados; P. Friedhoff *et al.*, *Biochemistry*, 37 (28):10223-30, 1998). La fluorimetría de TioS se emplea para evaluar si las composiciones descritas anteriormente son capaces de provocar un desensamblaje/disgregación de las fibrillas.

[0185] Se preparan fibrillas de tau agregadas en presencia de proporciones equimolares de TauRD y heparina (10 μ M cada una) en 20 mM de tampón de fosfato de sodio, pH 7,4. La mezcla de reacción se incuba a 37 °C con agitación (800-1000 rpm) durante 24 a 72 horas. Las composiciones de ensayo se evalúan a concentraciones variables de peso a peso con 0,14 mg/ml de TauRD con heparina. Las mismas mezclas de reacción (más concentraciones crecientes de composiciones de prueba) pero sin TauRD también se preparan en paralelo para servir como controles de fondo.

[0186] Después de 24 a 72 horas de coincubación, 50 μ l de cada mezcla de incubación se transfieren a una placa de microtitulación negra de 96 pocillos (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Dallas, Texas) con 50 μ l de solución salina tamponada con fosfato (PBS; Sigma -Aldrich, St. Louis, MO) y 25 μ l de solución de Tioflavina S (500 mM de Tioflavina S; Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri en PBS, pH 7,4). La fluorescencia de emisión se lee a 485 nm (longitud de onda de excitación de

444 nm) utilizando un fluorómetro de placa ELISA después de realizar la sustracción solo con tampón o solo como composición, como muestra en blanco.

[0187] La inhibición de la agregación de tau en un 50 %, IC_{50} , se calcula utilizando la versión Prism 5 (GraphPad Software) por regresión no lineal [(Log [inhibidor] frente a respuesta normalizada; pendiente variable)]. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, reduzca significativamente los agregados de tau positivos para TioS. También se espera que este estudio demuestre que la Composición A es un inhibidor de la agregación/fibrillogénesis de tau que podría usarse como un nuevo tratamiento terapéutico para las tauopatías.

[0188] En otro estudio, se probaron más de 25 extractos de té para determinar la inhibición de agregados de tau positivos para TioS. La mayoría de los té s eran extractos de té oolong. La **FIG. 6**, es un ejemplo de fluorescencia de TioS de tau agregada en presencia de algunos extractos de té oolong, té de manzanilla y té verde. Se incubaron concentraciones crecientes de extractos con 0,14 mg/ml (10 μ M) de TauRD y heparina equimolar durante 24 a 72 horas, agitando a 1000 rpm, 37 ° C. El principal extracto de té oolong (LOTE) inhibió los agregados de tau más que otros té s oolong, té de manzanilla o extracto de té verde. LOTE inhibió la agregación de tau al 50 % (IC_{50}) con una relación de 0,23:1, peso:peso, de composición a tau. Este experimento demuestra que LOTE tiene una capacidad superior a otras composiciones para inhibir la formación anormal de tau en ensamblajes patógenos fibrilares.

[0189] Después de identificar un extracto de té que tiene una excelente inhibición de la agregación de tau, se incubó el principal extracto de té de oolong (LOTE) solo o en combinación con PTI-00703® en el ensayo de inhibición de la agregación de tau. Una combinación de té oolong específico y PTI-00703® inhibió los agregados de tau positivos para TioS más que LOTE o PTI-00703® solos (*significativo por la prueba t pareada, $p < 0,05$) (**Figura 7**). Esta combinación del principal extracto de té de oolong y PTI-00703® es un potente inhibidor de la agregación/fibrillogénesis de tau que podría usarse como un nuevo tratamiento terapéutico para las tauopatías.

Ejemplo 5: Confirmación de la inhibición de la agregación de Tau mediante el análisis de la estructura secundaria de la proteína mediante espectroscopia de dicroísmo circular (DC)

[0190] La DC es un método poderoso que proporciona una confirmación independiente del colorante de que la estructura de una proteína ha cambiado. La DC mide la absorción diferencial entre la luz polarizada circularmente hacia la derecha e izquierda. Las proteínas contienen elementos de asimetría que exhiben distintas señales de DC medidas en unidades de elipticidad. Los agregados de tau fluorescentes de Tioflavina S tienen un mínimo de elipticidad de 218 nm, que es característico de las proteínas que contienen láminas β . La tau no agregada tiene una elipticidad con un mínimo característico a 195 nm que indica una estructura de espiral aleatoria. La espectroscopia CD se

realiza para determinar la potencia de las cualquiera de las composiciones descritas en la presente para inhibir la formación de la estructura secundaria de la lámina β de TauRD en condiciones propensas a la agregación. Los espectros de CD se toman de muestras que contienen +/- TauRD con concentraciones crecientes de compuestos y se analizan a 25 °C en un Espectropolarímetro JASCO Modelo J-810. Los ensayos de espectroscopia DC y TioT se analizan en paralelo a partir de la misma preparación de muestra para correlacionar los resultados de dos ensayos independientes. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhiba la formación anormal de tau en ensamblajes fibrilares de láminas β y mantendrá la tau en una forma espiral aleatoria soluble no patógena.

[0191] En otro estudio, se evaluó la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato. En la **FIG. 8**, se trató tau con el principal extracto de té de oolong (LOTE) o extracto de té de manzanilla durante 48 horas. La Tau tratada con LOTE se inhibe de forma dependiente de la dosis para que no se convierta en fibrillas que contengan láminas β . A la concentración más alta del tratamiento LOTE, tau permanece en forma de espiral aleatoria soluble con un mínimo de ~ 195 nm. Por el contrario, a la concentración más alta del tratamiento con extracto de té de manzanilla, tau todavía cambia a una estructura de lámina β agregada similar al control sin tratar. Estos datos confirman que LOTE tiene una capacidad significativa sobre otras composiciones para inhibir la formación anormal de tau en ensamblajes fibrilares de lámina β y mantiene la tau en una forma de espiral aleatoria soluble no patógena.

Ejemplo 6: Inhibición de la fibrillogénesis de la proteína Tau y disgregación de las fibrillas de Tau preformadas determinadas por microscopía electrónica de tinción negativa (EM)

[0192] El análisis EM se usa para controlar de forma independiente la eficacia de cualquiera de las composiciones descritas en la presente para inhibir la fibrillogénesis de tau. En estos experimentos, las fibrillas de tau se ensamblan incubando proporciones equimolares de proteína TauRD y heparina (10 μ M de cada una) en ausencia (control) o presencia de concentraciones crecientes de las composiciones de prueba. Después de la incubación por 2 días, se colocan muestras en rejillas, se tiñen con acetato de uranilo al 2 % y se visualizan con aumentos de 8 000 $\times$ a 30 000 $\times$ con un microscopio electrónico de transmisión JEOL 1010. Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, inhiba la formación de fibrillas de tau con análisis de EM. Se espera que los resultados de la Composición A se correlacionen bien con la fluorimetría de TioS y el análisis de DC, que presentarán una reducción en la fluorescencia de TioS y una disminución en la estructura de lámina β . También se espera que el análisis EM muestre que la Composición A inhibirá la agregación de tau y también disgregará las fibrillas de tau preformadas. Se espera que estos estudios muestren que la Composición A es un potente inhibidor de la agregación/fibrillogénesis de tau.

[0193] En otro estudio, para la combinación de extracto de té oolong y extracto de uña de gato, la **FIG. 9**, panel izquierdo, el análisis EM confirmó la formación de fibrillas de tau en ausencia de tratamiento. Sin tratamiento, tau formó una mezcla de filamentos rectos y helicoidales pareados similares a los encontrados en tauopatías humanas (VM Lee *et al.*, Ann. Rev. Neurosci. 24:1121-159, 2001). Estas muestras también se analizaron mediante el ensayo TioS y DC y se confirmó que eran positivas a la fluorescencia de TioS y que tenían una estructura de lámina β . En presencia de PTI-00703® y PTI-00703® + LOTE (Figura 9, panel central y derecho), las fibrillas de tau se acortan y se vuelven escasas, lo que indica una inhibición de la formación de fibrillas de tau. Incluso menos fibrillas son evidentes en las muestras de tau tratadas con PTI-00703® y LOTE. Estos resultados se correlacionan bien con la fluorometría de TioS y el análisis de DC, que mostró una reducción en la fluorescencia de TioS y una disminución en la estructura de lámina β . Al utilizar tres metodologías independientes, hemos identificado y validado el principal extracto de té oolong PTI-00703 + como un potente inhibidor de la agregación/fibrillogénesis de tau.

[0194] Al utilizar el análisis EM, se demostró que las fibrillas de tau preformadas se disgregan rápidamente en presencia de PTI-00703® y LOTE. Se incubó TauRD con heparina equimolar para formar fibrillas como se describe en el ensayo anterior. Se diluyó TauRD con o sin composiciones de prueba y se incubó, agitando a 37 °C durante varios puntos de tiempo. En cada punto de tiempo, los compuestos de prueba tauRD +/- se evaluaron para determinar la fluorescencia de TioS y se congelaron instantáneamente para el análisis EM. En la **FIG. 10** (panel izquierdo) sin tratamiento, la tau prefibrilizada permaneció en filamentos largos. En los siguientes paneles, se encontró que la tau prefibrilizada se disgregaba rápidamente en presencia de PTI-00703® + LOTE. Con tan solo 15 minutos de incubación con PTI-00703® + LOTE, las fibrillas de tau son más cortas y más escasas que sin tratamiento. La disgregación de las fibrillas de tau también se confirmó mediante el ensayo TioS (datos no mostrados). Estos datos indican que la composición de PTI-00703® + LOTE no solo puede inhibir la agregación de tau, sino que puede disgregar las fibrillas de tau preformadas.

Ejemplo 7: Disolución de extracto de té de uña de gato/Oolong mediante la adición de extracto de grosella negra

[0195] En el siguiente ejemplo, se hicieron comparaciones entre la solubilidad del extracto de té de uña de gato/oolong frente a el extracto de té de uña de gato/oolong con extracto de grosella negra agregado. En los ensayos visuales, se utilizó un vaso de agua para observar la disolución del té de uña de gato/oolong frente al té de uña de gato/oolong con 50 mg de grosella negra añadida. Sorprendentemente, la adición de grosella negra hizo que el extracto de té de uña de gato/oolong fuera mucho más soluble en agua. También hizo que la composición del extracto de té de uña de gato/oolong con la adición de grosella negra tuviera mucho mejor sabor (más dulce, menos amargo y menos astringente al gusto).

[0196] La **FIG. 15** muestra cápsulas de extracto de té de uña de gato/oolong frente a un vaso de agua (lado izquierdo de la figura). En el lado derecho hay cápsulas con el mismo extracto de uña de gato/té oolong con la adición de 50 mg de extracto de grosella negra europea.

[0197] La **FIG. 16** muestra una sola cápsula frente a un vaso de agua. El lado izquierdo es el extracto de uña de gato/té oolong e comparación con el lado derecho que contiene la combinación del extracto de uña de gato/té oolong/grosella negra.

[0198] La **FIG. 17A** muestra grumos (en 5 segundos) e insolubilidad en agua de la combinación de extracto de uña de gato/té oolong. La **FIG. 17B** demuestra la formación de grumos (en 5 segundos) de la combinación de uña de gato/té oolong/grosella negra. La **FIG. 17C** demuestra que dentro de los 10 segundos, sorprendentemente, la combinación de uña de gato/té oolong/grosella negra comienza a disolverse en agua.

[0199] La **FIG. 18A** demuestra que después de agitar con una cuchara, el extracto de uña de gato/té oolong (lado izquierdo) permanece insoluble con un grupo de material insoluble en la parte superior del vaso de agua; mientras que la adición de grosella negra (lado derecho) que hace que el agua se vuelva de color púrpura oscuro también hace que la mezcla sea mucho más soluble en agua con pocos o ningún grumo de material en la parte superior del vaso. La **FIG. 18B** es un primer plano del extracto de uña de gato/té oolong que muestra insolubilidad en agua con una gran cantidad de material insoluble en la parte superior del vaso de agua después de agitar. La **FIG. 18C** es un primer plano de la combinación de uña de gato/té oolong/grosella negra que muestra una casi disolución completa en agua después de agitarla. La adición de grosella negra también hace que la solución tenga un sabor mucho más dulce (menos amargo y menos astringente).

Ejemplo 8: Pruebas *in vivo* para mejorar la cognición y la memoria

[0200] Se utilizan más estudios *in vivo* para probar cualquiera de las composiciones descritas en la presente para determinar su eficacia en la reducción de la carga de "placas y ovillos" del cerebro y la mejora de la cognición y la memoria. Se seleccionan entre 40 y 60 hombres y mujeres para un estudio clínico. Los sujetos tienen deterioro de la memoria asociado con la edad (AAMI) y se espera que tengan síntomas de pérdida de memoria que empeoren dentro del período de estudio de 6 meses, pero por lo demás gozan de buena salud en general.

[0201] Este estudio incluye un grupo placebo, es decir, los sujetos se dividen en dos grupos, uno de los cuales recibe la composición de prueba, que es cualquiera de las composiciones descritas en la presente formuladas en cápsulas (como dos cápsulas de 375 mg o 670 mg que contienen la Composición A con una comida; preferiblemente almuerzo), y el otro recibe un placebo (dos cápsulas que contienen cápsulas sin los ingredientes activos del producto del estudio). Se evalúa para referencia a los sujetos en cuanto a memoria, cognición, atención, concentración, razonamiento y otros síntomas asociados con el deterioro cognitivo leve (DCL). Los sujetos de los grupos de

prueba reciben una dosis terapéutica del extracto del producto del estudio combinado o placebo durante 6 meses, con análisis de memoria a corto plazo, cognición, atención y concentración que se examinarán a los 0, 1, 3 y 6 meses de tratamiento. Se mantienen registros precisos con respecto a la memoria, la atención y la concentración en cuanto a los síntomas de referencia en ambos grupos y al final del estudio se comparan estos resultados. Los resultados también se comparan entre los miembros de cada grupo. Además, los resultados de cada sujeto se comparan con los síntomas informados por cada sujeto antes de que comenzara el estudio. La actividad de la composición de prueba utilizada se ilustra mediante la atenuación del deterioro cognitivo típico, el deterioro de la memoria a corto plazo, la cognición, la atención y la concentración, y/o las alteraciones del comportamiento asociadas con el deterioro de la memoria asociado con la edad (AAMI). Se espera que la Composición A, que es una combinación de extracto de grosella negra, extracto de té oolong y extracto de uña de gato, reduzca la carga de "placas y ovillos" en el cerebro y/o mejore la cognición y la memoria.

[0202] La presente descripción no debe limitarse en términos de las modalidades particulares descritas en esta solicitud, que pretenden ser ilustraciones únicas de aspectos individuales de la descripción. Todas las distintas modalidades de la presente descripción no se describen en la presente. Se pueden realizar muchas modificaciones y variaciones de la descripción sin apartarse de su espíritu y alcance, como será evidente para los expertos en la técnica. Los métodos y aparatos funcionalmente equivalentes dentro del alcance de la descripción, además de los enumerados en la presente, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de las descripciones anteriores. Se pretende que tales modificaciones y variaciones caigan dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. La presente descripción debe estar limitada únicamente por los términos de las reivindicaciones adjuntas, junto con el alcance completo de los equivalentes a los que tienen derecho tales reivindicaciones.

[0203] Debe entenderse que la presente descripción no se limita a usos, métodos, reactivos, compuestos, composiciones o sistemas biológicos particulares, que, por supuesto, pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en la presente únicamente tiene el fin de describir ejemplos de modalidades particulares y no pretende ser taxativa.

[0204] Además, cuando las características o aspectos de la descripción se describen en términos de grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la descripción también se describe en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush.

[0205] Como entenderá un experto en la técnica, para todos los fines, particularmente en términos de proporcionar una descripción escrita, todos los rangos descritos en la presente también abarcan todos los posibles subrangos y combinaciones de subrangos de los mismos. Se puede reconocer fácilmente que cualquier rango enumerado describe suficientemente y permite que el mismo rango

se divida en al menos mitades, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc. Como ejemplo no limitativo, cada rango discutido en la presente puede ser fácilmente dividido en un tercio inferior, tercio medio y tercio superior, etc. Como también entenderá un experto en la técnica, todos los lenguajes tales como "hasta", "al menos", "mayor que", "menor que" y similares, incluyen el número mencionado y se refieren a rangos que se pueden dividir posteriormente en subrangos como se discutió anteriormente. Finalmente, como entenderá un experto en la técnica, un rango incluye cada miembro individual. Así, por ejemplo, un grupo que tiene 1-3 componentes se refiere a grupos que tienen 1, 2 o 3 componentes. De manera similar, un grupo que tiene de 1 a 5 componentes se refiere a grupos que tienen 1, 2, 3, 4 o 5 componentes, etc.

