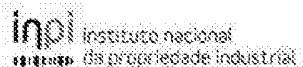

(11) Número de Publicação: **PT 2765869 E**



(51) Classificação Internacional:

A23L 1/29 (2015.01) **A23L 1/30** (2015.01)
A23L 1/32 (2015.01) **A61K 35/00** (2015.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **2012.05.18**

(30) Prioridade(s): **2011.10.13 EP 11184990**

(43) Data de publicação do pedido: **2014.08.20**

(45) Data e BPI da concessão: **2015.09.09**
254/2015

(73) Titular(es):

OVIVITY GROUP, S.L.
C. ANGLI, 66, TORRE 08017 BARCELONA ES

(72) Inventor(es):

JUAN CUNILL AIXELÀ ES

(74) Mandatário:

MARIA TERESA DELGADO
AVENIDA DA LIBERDADE, Nº 69, 3º D 1250-140 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS COM PROPRIEDADES REGENERADORAS, ANALGESICAS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIAS**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO COMPREENDE UMA PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS COMPREENDENDO UMA MISTURA DE GEMA E DE CLARA EXTRAÍDAS DE UM OVO FERTILIZADO E INCUBADO DURANTE UM PERÍODO COMPREENDIDO ENTRE 18 HORAS E 36 HORAS, EM QUE A MISTURA DA GEMA E DA CLARA SE ENCONTRA NUMA RAZÃO EM QUE A QUANTIDADE DE CLARA ESTÁ COMPREENDIDA ENTRE 2% E 40% EM VOLUME DO VOLUME DA GEMA, ÚTIL COMO AGENTE REGENERADOR, ANALGÉSICO E/OU ANTI-INFLAMATÓRIO, BEM COMO O SEU PROCESSO DE PREPARAÇÃO. A INVENÇÃO TAMBÉM SE REFERE A ALIMENTOS FUNCIONAIS, SUPLEMENTOS DIETÉTICOS, E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS OU VETERINÁRIAS CONTENDO A PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS. ELA TAMBÉM SE REFERE A COMPOSIÇÕES COSMÉTICAS QUE COMPREENDEM A PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS, E À SUA UTILIZAÇÃO COMO AGENTE DE CUIDADO DA PELE OU DE CUIDADO DO CABELO OU PELO.

RESUMO**"PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS COM PROPRIEDADES REGENERADORAS,
ANALGÉSICAS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIAS"**

A invenção compreende uma preparação à base de ovos compreendendo uma mistura de gema e de clara extraídas de um ovo fertilizado e incubado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas, em que a mistura da gema e da clara se encontra numa razão em que a quantidade de clara está compreendida entre 2% e 40% em volume do volume da gema, útil como agente regenerador, analgésico e/ou anti-inflamatório, bem como o seu processo de preparação. A invenção também se refere a alimentos funcionais, suplementos dietéticos, e composições farmacêuticas ou veterinárias contendo a preparação à base de ovos. Ela também se refere a composições cosméticas que compreendem a preparação à base de ovos, e à sua utilização como agente de cuidado da pele ou de cuidado do cabelo ou pelo.

DESCRIÇÃO**"PREPARAÇÃO À BASE DE OVOS COM PROPRIEDADES REGENERADORAS,
ANALGÉSICAS E/OU ANTI-INFLAMATÓRIAS"****DESCRIÇÃO**

A presente invenção refere-se a uma preparação contendo ovos fertilizados e ao seu processo de preparação. Ela também se refere à sua utilização terapêutica como agente regenerador, agente analgésico e/ou agente anti-inflamatório, e à sua utilização como cosmético. Ela também se refere a alimentos funcionais, suplementos dietéticos, composições farmacêuticas ou veterinárias contendo a preparação à base de ovos da invenção.

ESTADO DA TÉCNICA

A inflamação é parte da complexa resposta biológica dos tecidos vasculares a estímulos nocivos tais como patógenos, células lesionadas, ou substâncias irritantes. A inflamação é uma tentativa de proteção por parte do organismo para remover os estímulos nocivos e iniciar o processo de cura.

Caracteriza-se pela fenestração da microvasculatura, derrame dos elementos sanguíneos para os espaços intersticiais, e migração de leucócitos para o tecido inflamado. A um nível macroscópico, isto é normalmente acompanhado pelos sinais clínicos familiares de eritema, edema, hiperalgesia e dor.

Sem a inflamação, as feridas e as infecções nunca se curariam. De modo semelhante, a destruição progressiva do tecido comprometeria a sobrevivência do organismo. No entanto, a inflamação crónica também pode levar a uma série de doenças tais como a febre dos fenos, aterosclerose, artrite reumatoide, e mesmo cancro (p. ex. carcinoma da vesícula biliar). É por essa razão que a inflamação é normalmente bem regulada pelo organismo.

L. Coussens et al. em "Inflammation and cancer", Nature 2002, vol. 420, págs. 860-867 descrevem que o cancro é uma condição patológica relacionada com a inflamação. Dados recentes expandiram o conceito de que a inflamação é um componente crítico do desenvolvimento de tumores. Muitos cancros surgem de locais de infecção, irritação crónica e inflamação. Está-se agora a tornar claro que o microambiente do tumor, que é em grande parte orquestrado por células inflamatórias, é um dos participantes indispensáveis no processo neoplásico, fomentando a proliferação, sobrevivência e migração.

Resumidamente, a resposta inflamatória provoca muito do desconforto físico que tem vindo a ser associado a diferentes doenças e lesões. É conhecida a administração de agentes farmacêuticos que reduzem o desconforto físico da resposta inflamatória. Os fármacos anti-inflamatórios são utilizados para o tratamento de um largo espetro de transtornos, e o mesmo fármaco é normalmente utilizado para tratar diferentes doenças. O tratamento com fármacos anti-inflamatórios não é para a doença, mas mais frequentemente para o sintoma.

Os ovos, em especial os ovos de galinha, têm sido objeto de intensiva pesquisa química, bioquímica e de tecnologia alimentar desde há muitas décadas, devido à sua importância na nutrição humana e à sua importância como fonte de proteínas. Também é conhecida a utilização de produtos à base de ovos para o tratamento de diversos transtornos associados à inflamação.

A patente EP0904090 descreve uma composição anti-inflamatória produzida em alimentos naturais, em particular em produtos à base de ovos. A atividade anti-inflamatória foi descoberta numa fração isolada tanto da gema como da clara do ovo.

A patente CA2197050 descreve uma utilização de cascas de ovos fertilizados e incubados no tratamento e prevenção do cancro.

A patente WO0191777 descreve um fármaco que consiste em compostos proteicos ativados obtidos utilizando um processo que envolve aquecimento, precipitação e purificação de uma mistura contendo gema e clara de um ovo, e resina de pinheiro ou óleo da agulha do pinheiro, bem como a sua utilização no tratamento da tuberculose, vários cancros e outras doenças inflamatórias.

Finalmente, a patente WO2009115429 descreve uma preparação alimentar e uma composição farmacêutica contendo um extrato embrionário, e a sua utilização em diversos transtornos relacionados com a inflamação; em particular, é descrita a sua utilização para a prevenção da pele seca, prevenção da queda de cabelo, estimulação das defesas, indicada no combate a infecções ou doenças parasitárias em cães e gatos,

tratamento do cancro, bem como a sua utilização como agente regenerador, agente antidegenerativo ou agente anti-inflamatório.

Do que se sabe da técnica, conclui-se que a utilização de produtos naturais tais como preparações à base de ovos é de grande interesse na área da medicina para tratar transtornos associados à inflamação. Deste modo, a disponibilização de uma preparação melhorada à base de ovos para tratar vários transtornos relacionados com a inflamação seria ainda de grande interesse na indústria.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Os inventores descobriram que uma preparação à base de ovos compreendendo uma mistura de gema e clara extraídas de um ovo fertilizado que foi incubado por um curto período, possui propriedades analgésicas e/ou anti-inflamatórias. Também se descobriu que possui propriedades regeneradoras. A preparação da invenção resultou ser mais eficaz do que outras preparações à base de ovos, e em relação a outros agentes regeneradores, analgésicos e/ou anti-inflamatórios conhecidos, tem a vantagem da origem natural da preparação, o que implica que ela não seja tóxica e não produza efeitos secundários.

Nada na técnica sugere que uma preparação à base de ovos com uma mistura de gema e clara numa razão específica, de um ovo incubado durante um período compreendido entre 18 e 36 horas, poderia conferir à preparação as excelentes propriedades regeneradoras, analgésicas e anti-inflamatórias encontradas na preparação à base de ovos da invenção.

Para além disso, os inventores descobriram que a preparação à base de ovos da invenção é também útil como agente para o cuidado da pele e cuidado do cabelo ou do pelo.

Consequentemente, um primeiro aspeto da presente invenção refere-se a uma preparação à base de ovos que compreende uma mistura de gema e de clara extraídas de um ovo fertilizado e incubado por um período compreendido entre 18 horas e 36 horas, em que a mistura da gema e da clara se encontra numa proporção em que a quantidade de clara está compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema.

Um segundo aspeto da invenção refere-se a um processo para preparar uma preparação à base de ovos tal como definida acima, que compreende: (a) a incubação de um ovo fertilizado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas; (b) a recolha de uma quantidade de gema e de uma quantidade de clara do ovo fertilizado e incubado obtido na etapa anterior, e mistura da gema e da clara numa proporção em que a quantidade de clara esteja compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema; (c) a homogeneização da mistura da gema e da clara obtida na etapa b); e (d) o arrefecimento brusco da preparação à base de ovos obtida na etapa c).

É possível utilizar a preparação da invenção como parte de um alimento com uma composição nutritiva. Este referido alimento funcional tem um efeito positivo na saúde da pessoa. Assim, um terceiro aspeto da presente invenção refere-se a um alimento funcional que compreende a preparação à base de ovos da invenção. É também possível utilizar-se a preparação da invenção como parte de um suplemento dietético. Assim, um quarto aspeto da presente

invenção refere-se a um suplemento dietético que compreende a preparação à base de ovos da invenção.

Um quinto aspeto da invenção refere-se a uma composição farmacêutica que compreende uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com excipientes ou veículos farmacêuticos. De preferência, a composição farmacêutica compreende uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com um ou mais excipientes ou veículos farmacêuticos.

Um sexto aspeto da invenção refere-se a uma composição veterinária que compreende uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com excipientes ou veículos veterinários. De preferência, a composição veterinária compreende uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com um ou mais excipientes ou veículos veterinários.

Um sétimo aspeto da invenção refere-se a uma composição cosmética que compreende uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com um ou mais excipientes ou veículos cosméticos.

O facto da preparação da presente invenção apresentar excelentes propriedades analgésicas é vantajoso para a sua utilização no tratamento da dor aguda ou crónica em condições patológicas relacionadas com a dor. Consequentemente, um oitavo aspeto da presente invenção refere-se à preparação tal como definida acima, para

utilização como agente analgésico no tratamento da dor aguda ou crónica em condições patológicas relacionadas com a dor.

O facto da preparação da presente invenção apresentar excelentes propriedades regeneradoras permite a sua utilização como agente regenerador de tecidos. A gema e a clara do ovo compreendem proteínas. Entre elas encontram-se fatores de crescimento. Os fatores de crescimento controlam o crescimento embrionário. Foram descritos numerosos fatores de crescimento, por exemplo o IGF (Fator de crescimento da insulina), FGF (fator de crescimento de fibroblastos), NFG (fator de crescimento dos nervos), EGF (fator de crescimento epidérmico) entre outros. O padrão de expressão dos diferentes fatores de crescimento nos vários estágios de desenvolvimento varia, e varia na gema e na clara. Os inventores conseguiram extrair fatores de crescimento com atividade proliferativa celular no ponto em que a sua atividade é máxima. Deste modo, este facto contribui para as excelentes propriedades regeneradoras da preparação da invenção.

A apoptose foi implicada em doenças degenerativas. A amostra da invenção inibiu a apoptose. Por conseguinte, esta atividade inibidora proporciona propriedades antidegenerativas. Assim, um nono aspeto da invenção refere-se à preparação tal como definida acima, para utilização como agente regenerador no tratamento de condições patológicas degenerativas.

Para além disso, o facto da preparação da presente invenção apresentar excelentes propriedades anti-inflamatórias é vantajoso para a sua utilização como agente anti-inflamatório no tratamento de condições patológicas

inflamatórias. Deste modo, um décimo aspeto da presente invenção refere-se à preparação à base de ovos tal como definida acima, para utilização como agente anti-inflamatório no tratamento de condições patológicas inflamatórias.

Por fim, uma vez que a preparação à base de ovos da invenção é também útil para o cuidado da pele e do cabelo ou do pelo, um décimo primeiro aspetto da invenção refere-se à utilização cosmética de uma preparação à base de ovos tal como definida acima como agente de cuidado da pele; e um décimo segundo aspetto da invenção refere-se à utilização cosmética de uma preparação à base de ovos tal como definida acima como agente de cuidado do cabelo ou do pelo.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A FIG. 1 mostra a percentagem de viabilidade celular em HMEC para diferentes amostras comparativas, extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), ovo não fertilizado (6), e controlo enzimático (4), bem como para a amostra de acordo com a invenção, extrato de gema (2). As amostras foram diluídas a 0,5% (coluna branca) e a 1% (coluna preta).

A FIG. 2 mostra a quantidade média de comida (em gramas) ingerida por ratos alimentados com diferentes amostras, incluindo a amostra de acordo com a invenção, extrato de gema (2), e as amostras comparativas: extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), ovo não fertilizado (6) e controlo de água (7).

A FIG. 3 mostra o ganho diário de peso em termos de percentagem para ratos-macho (coluna preta) e para ratos-fêmea (coluna branca) alimentados com diferentes amostras, incluindo a amostra de acordo com a invenção, extrato de gema (2), e as amostras comparativas: extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), ovo não fertilizado (6) e controlo de água (7).

A FIG. 4 mostra a imunorreatividade a pAKT, expressa pela percentagem de imunorreatividade a pAKT da amostra/percentagem de imunorreatividade a pAKT do meio de controlo. As diferentes amostras são amostras comparativas: extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), controlo enzimático (4), meio de controlo (5), ovo não fertilizado (6); e a amostra de acordo com a invenção, extrato de gema (2).

A FIG. 5 mostra a imunorreatividade a p70S6K, expressa pela percentagem de imunorreatividade a p70S6K da amostra/percentagem de imunorreatividade a p70S6K do meio de controlo. As diferentes amostras são amostras comparativas: extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), controlo enzimático (4), meio de controlo (5), ovo não fertilizado (6); e a amostra de acordo com a invenção, extrato de gema (2).

A FIG. 6 mostra a imunorreatividade à caspase 3, expressa pela percentagem de imunorreatividade à caspase 3 da amostra/percentagem de imunorreatividade à caspase 3 do meio de controlo. As diferentes amostras são amostras comparativas: extrato embrionário (1), ovo não incubado (3), controlo enzimático (4), e meio de controlo (5), bem como para a amostra de acordo com a invenção, extrato de

gema (2).

A FIG. 7 mostra os resultados para um modelo animal de Encefalite Autoimune Experimental (EAE) (Grupo D: animais sem tratamento; Grupo E: tratamento com ovo não fertilizado (6); e Grupo F: (tratamento com preparação à base de ovos da invenção, extrato de gema (2))). A FIG. 7A mostra o dia do surgimento de sintomas clínicos. A FIG. 7B mostra o resultado clínico mais elevado na fase do auge. A FIG. 7C mostra o resultado clínico mais baixo na fase crónica.

A FIG. 8 mostra os resultados da regeneração neuronal num modelo de axotomia. Os animais testados foram divididos nos seguintes grupos: animais de controlo não sujeitos a axotomia: Grupo A (sem tratamento), Grupo B (tratamento com ovo não fertilizado (6)), e Grupo C (tratamento com extrato de gema (2)), e animais axotomizados: Grupo D (tratamento com ovo não fertilizado (6)), e Grupo E (tratamento com extrato de gema (2)). A FIG. 8A mostra a quantificação de neurónios positivos a Fluorogold de animais dos grupos A, B, e C; coluna branca: lado esquerdo, e coluna preta: lado direito. A FIG. 8B mostra a quantificação de neurónios positivos a Fluorogold de animais não sujeitos a axotomia (Grupos B, e C), e do lado contralateral não lesionado em animais axotomizados (Grupos D e E). A FIG. 8C mostra a quantificação de neurónios positivos a Fluorogold do lado ipsilateral em animais axotomizados (Grupos D e E). A linha horizontal acima de 400 indica o grau de regeneração invulgar.

DESCRIPÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Tal como mencionado acima, um aspeto da presente invenção refere-se a uma preparação à base de ovos que compreende uma mistura de gema e de clara extraídas de um ovo fertilizado e incubado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas, em que a mistura da gema e da clara está presente numa razão em que a quantidade da clara está compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema. Numa forma de realização preferida, a preparação à base de ovos consiste numa mistura de gema e de clara extraídas de um ovo fertilizado e incubado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas, em que a mistura da gema e da clara se encontra numa razão em que a quantidade da clara está compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema.

A preparação da invenção é mais ativa quando a clara está presente numa percentagem igual ou superior a 5%. Por conseguinte, numa forma de realização preferida, a quantidade de clara está compreendida entre 5% e 40% por volume do volume da gema. Numa outra forma de realização preferida, a quantidade de clara está compreendida entre 5% e 30% por volume do volume da gema. Numa outra forma de realização mais preferida, a quantidade de clara está compreendida entre 7% e 15% por volume do volume da gema. Numa outra forma de realização ainda mais preferida, a quantidade de clara corresponde a 10% por volume do volume da gema.

Existem dois tipos de claras no ovo, a fluída e a densa. Em particular, a clara do ovo é composta por várias partes: uma parte externa que contém a clara fluida (denominada no presente documento clara fluida externa);

uma parte interna que contém clara fluida (denominada no presente documento clara fluida interna), que está ligada à gema circundando-a; e uma parte de clara densa (denominada no presente documento clara densa), que se situa entre as duas partes da clara fluida.

Numa forma de realização preferida, a clara na preparação à base de ovos da invenção é clara fluida. Numa forma de realização mais preferida, a clara na preparação à base de ovos da invenção é a clara fluida interna.

Os inventores descobriram que a clara fluida interna representa cerca de 40% por volume do volume da gema. Se a preparação à base de ovos compreender uma % mais elevada de clara, de tal modo que a preparação à base de ovos contenha clara fluida interna e também clara fluida externa e/ou clara densa, a preparação à base de ovos torna-se mais diluída porque a clara adicional não possui as propriedades vantajosas da clara fluida interna, mas a preparação à base de ovos ainda mantém as suas propriedades terapêuticas e cosméticas. Deste modo, numa forma de realização particular, a preparação à base de ovos da invenção compreende ainda clara fluida externa e/ou clara densa numa quantidade tal que a soma da clara fluida interna, clara fluida externa, e clara densa na preparação à base de ovos constitua até 99% por volume da soma dos volumes da gema e do total das claras.

O termo "incubado", tal como utilizado no presente documento, refere-se à manutenção constante da temperatura de incubação do ovo. Numa forma de realização preferida, a temperatura de incubação está compreendida entre 34 °C e 41 °C. Numa forma de realização mais preferida, a

temperatura de incubação está compreendida entre 35,5-37 °C. Numa forma de realização ainda mais preferida, a temperatura de incubação está compreendida entre 35,5 e 36,8 °C. Estas condições específicas de temperatura tornam impossível o desenvolvimento embrionário de galinhas. Numa forma de realização particular, a temperatura é selecionada entre as seguintes temperaturas, 34 °C, 35 °C, 36 °C, 37 °C, 38 °C, 39 °C, 40 °C, 41 °C.

Tal como mencionado acima, o período de incubação está compreendido entre 18 horas e 36 horas, compreendendo este período o estágio de gástrula.

O termo "estágio de gástrula", tal como utilizado no presente documento, refere-se a uma fase inicial no desenvolvimento embrionário das aves, durante a qual a blástula de camada única é reorganizada numa estrutura trilaminar conhecida como a gástrula. Estas três camadas germinativas são conhecidas como ectoderme, mesoderme e endoderme. A gastrulação dos pintainhos termina após 24 horas a 28 horas de incubação.

Os ovos incubados por um tal período entre 18 horas e 36 horas numa fase de pré-gástrula, fase de gástrula e fase de pós-gástrula, apresentam o padrão de expressão dos diferentes fatores de crescimento nas concentrações ótimas para se usar a preparação da invenção para utilização como agente regenerador, anti-inflamatório e analgésico.

Numa forma de realização preferida, os ovos utilizados são ovos de aves. Numa forma de realização mais preferida, os

ovos utilizados são de aves criadas para a produção de ovos, por exemplo galinhas, gansos, patos, codornizes, perus, avestruzes, faisões, pombos. Numa forma de realização particular, os ovos são ovos de galinha.

A preparação à base de ovos da invenção é preparada por meio de um processo que compreende: (a) a incubação de um ovo fertilizado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas; (b) a colheita de uma quantidade da gema e de uma quantidade da clara do ovo fertilizado e incubado obtido na etapa anterior, e mistura da gema e da clara numa proporção em que a quantidade da clara esteja compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema; (c) a homogeneização da mistura da gema e da clara obtida na etapa b); e (d) o arrefecimento brusco da preparação à base de ovos obtida na etapa c).

Numa forma de realização preferida, o período está compreendido entre 20 e 28 horas. Numa outra forma de realização preferida, o período está compreendido entre 22 e 26 horas. Numa forma de realização mais preferida, o período é de 24 horas.

Numa outra forma de realização preferida, a etapa a) é levada a cabo a uma temperatura selecionada entre as seguintes temperaturas, 34 °C, 35 °C, 36 °C, 37 °C, 38 °C, 39 °C, 40 °C, 41 °C, por um período compreendido entre 22 e 26 horas.

As proteínas na preparação à base de ovos, por exemplo fatores de crescimento, são instáveis, podendo ocorrer a desnaturação da proteína com temperaturas elevadas, entre outras características físicas. Assim, numa forma de

realização preferida, o processo compreende ainda uma etapa adicional de refrigeração dos ovos incubados obtidos na etapa a).

A etapa (d) de arrefecimento brusco é levada a cabo para parar o processo e preservar as propriedades da preparação à base de ovos obtida na etapa c). A etapa de arrefecimento brusco compreende a diminuição da temperatura abaixo dos 34 °C, mais de preferência abaixo de 0 °C, mais de preferência a cerca de -18 °C. Numa forma de realização preferida, a etapa de arrefecimento brusco é uma etapa de congelamento. Numa outra forma de realização preferida, a etapa de arrefecimento brusco é uma etapa de liofilização.

Opcionalmente, quando a preparação à base de ovos compreende ainda clara fluida externa e/ou clara densa, o processo compreende ainda a etapa de mistura da quantidade específica de clara fluida externa e/ou clara densa.

A preparação à base de ovos da presente invenção pode também ser definida como uma preparação à base de ovos obtenível pelo processo definido acima. Deste modo, faz também parte da invenção, uma preparação à base de ovos que compreende uma mistura de gema e clara numa proporção em que a quantidade da clara está compreendida entre 2% e 40% em volume do volume da gema, obtenível por um processo preparativo que compreende as seguintes etapas: (a) incubação de um ovo fertilizado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas; (b) colheita de uma quantidade da gema e de uma quantidade da clara do ovo fertilizado e incubado obtido na etapa anterior, e mistura da gema e da clara numa proporção em que a quantidade da

clara esteja compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema; (c) homogeneização da mistura da gema e da clara obtida na etapa b); e (d) arrefecimento brusco da preparação à base de ovos obtida na etapa c). Formas de realização preferidas são preparações à base de ovos obteníveis através de qualquer das formas de realização preferidas do processo definido acima.

A preparação à base de ovos "obtenível através" do processo da invenção tal como definido acima, é aqui utilizada para definir a preparação à base de ovos por meio do processo para a obter e refere-se à preparação à base de ovos obtenível através do processo preparativo que comprehende as etapas a), b), c), e d) tais como definidas acima. Para os objetivos da invenção, as expressões "obtenível", "obtida" e expressões equivalentes são usadas indistintamente, e, em qualquer caso, a expressão "obtenível" engloba a expressão "obtida".

Um alimento funcional ou um suplemento dietético que comprehende a preparação à base de ovos da invenção, bem como composições farmacêuticas ou veterinárias que comprehendem a preparação à base de ovos tal como definida acima, também fazem parte da invenção.

O termo "alimento funcional", tal como utilizado no presente documento, refere-se a um alimento em que foi adicionado o produto à base de ovos da presente invenção. Em geral, os alimentos funcionais são parte do *continuum* de produtos que os indivíduos podem consumir para melhorar a sua saúde e/ou contribuir para a redução do seu fardo de doenças.

O termo "suplemento dietético", tal como utilizado no presente documento, refere-se a uma preparação destinada a complementar a dieta e a fornecer nutrientes tais como vitaminas, minerais, fibra, ácidos gordos ou aminoácidos, que podem estar em falta ou que podem não ser consumidos em quantidades suficientes na dieta da pessoa. O termo suplemento dietético pretende incluir os termos geralmente utilizados na área, por exemplo, nutracêutico ou suplemento enriquecido.

É possível a administração da preparação da invenção sem quaisquer aditivos, excipientes ou veículos.

Alternativamente, a preparação à base de ovos da invenção pode compreender compostos adicionais, por exemplo aditivos. Exemplos de aditivos incluem antioxidantes tais como a vitamina C, aromas tais como o ácido glutâmico, conservantes tais como extrato de alecrim, ou estabilizadores tais como ágar ou pectina.

Numa forma de realização preferida, a preparação à base de ovos da invenção é administrada a mamíferos, incluindo humanos.

A preparação à base de ovos da invenção pode ser uma forma de dosagem oral. Numa forma de realização preferida, a forma de dosagem oral é um líquido. Numa forma de realização preferida, a administração da preparação à base de ovos é a administração sublingual.

Numa outra forma de realização preferida, a preparação à base de ovos da invenção é uma forma sólida seca, em particular uma forma de pó. A preparação à base de ovos

uma forma de pó pode ser uma forma liofilizada. Uma preparação liofilizada pode ser facilmente misturada com outros compostos, por exemplo aditivos, tem um prazo de validade que facilita o seu fabrico, empacotamento, transporte e armazenamento.

Numa forma de realização preferida, a preparação da presente invenção é carregada em cápsulas ou grânulos.

Numa outra forma de realização preferida, a preparação da presente invenção é carregada em micelas.

A preparação à base de ovos da invenção pode também ser aplicada por administração tópica. As composições tópicas da invenção podem ser formuladas em várias formas que incluem, mas não estão limitadas a soluções, aerossóis e pulverizadores com não aerossóis, máscaras faciais, cremes de barbear, pós, musses, loções, géis, bastões, pomadas, pastas, cremes, champôs, cremes de lavagem, condicionadores para o cabelo, géis de duche, produtos para lavar o corpo ou produtos para lavar a cara. Em geral, as composições tópicas podem compreender de 1% a 15% por volume da preparação à base de ovos da invenção em relação ao volume total da composição.

As composições tópicas da invenção podem ser preparadas de acordo com métodos bem conhecidos no estado da técnica. Os excipientes e/ou veículos apropriados, e as suas quantidades, podem ser prontamente determinados pelos peritos na técnica, de acordo com o tipo de formulação que está a ser preparada.

Tal como mencionado acima, a presente invenção refere-se a composições farmacêuticas, composições veterinárias e composições cosméticas que compreendem uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com um ou mais excipientes ou veículos farmacêuticos, veterinários ou cosméticos.

Para os objetivos da presente invenção, o termo "quantidade eficaz" designa uma quantidade que é suficiente para se obter o efeito esperado. No caso das composições farmacêuticas e veterinárias, a quantidade eficaz é a "quantidade terapeuticamente eficaz" e refere-se à quantidade de um composto que, quando administrada, é suficiente para prevenir o desenvolvimento, aliviar em alguma extensão, um ou mais dos sintomas do transtorno, doença ou condição patológica que está a ser tratada. A dose particular de composto administrada de acordo com a invenção irá, obviamente, ser determinada pelas circunstâncias particulares que envolvem o caso, incluindo o composto administrado, a via de administração, a condição patológica particular que está a ser tratada, e considerações similares.

A expressão "excipientes ou veículos farmacêutica ou veterinariamente aceitáveis" refere-se a materiais, composições ou veículos farmacêutica ou veterinariamente aceitáveis para utilização na tecnologia farmacêutica ou veterinária na preparação de composições com utilização médica. Cada componente tem que ser farmacêutica ou veterinariamente aceitável no sentido de ser compatível com os outros ingredientes da composição farmacêutica ou veterinária. Ele deve também ser adequado para uso em contato com o tecido ou o órgão de seres humanos ou de

animais sem excessiva toxicidade, irritação, resposta alérgica, imunogenicidade ou outros problemas ou complicações, proporcionalmente a uma razão razoável benefício/risco.

A expressão "excipientes ou veículos cosmeticamente aceitáveis" refere-se àqueles excipientes ou veículos apropriados para uso em contacto com a pele humana ou dos animais, sem toxicidade, incompatibilidade, instabilidade, resposta alérgica indevidas, entre outras.

As composições farmacêuticas e veterinárias são de preferência para administração oral, e podem ser apresentadas como um líquido, pós, comprimidos, comprimidos revestidos ou cápsulas. Numa forma de realização preferida, as composições farmacêuticas, veterinárias e cosméticas são para administração oral, e podem ser apresentadas como um líquido, pós, comprimidos, comprimidos revestidos, cápsulas ou grânulos. Numa outra forma de realização preferida, as composições farmacêuticas, veterinárias e cosméticas são para administração tópica.

Tal como mencionado acima, é parte da invenção a preparação à base de ovos para utilização no tratamento da dor aguda ou crónica em condições patológicas relacionadas com a dor, isto é, para utilização como gentileza analgésico. Este aspeto da invenção pode também ser formulado como a utilização da preparação à base de ovos da presente invenção para a preparação de um medicamento para tratar a dor aguda ou crónica em condições patológicas relacionadas com a dor. A invenção refere-se também a um método de tratamento de um

mamífero, incluindo um ser humano, que sofre de dor aguda ou crónica, em que o referido método compreende a administração ao referido mamífero, incluindo um ser humano, de uma quantidade terapeuticamente eficaz da preparação à base de ovos da presente invenção, conjuntamente com excipientes ou veículos aceitáveis.

De preferência, o tratamento é um tratamento coadjuvante. Deste modo, a preparação à base de ovos da invenção pode ser administrada em combinação com outros agentes analgésicos conhecidos.

Numa forma de realização preferida, a dose da preparação à base de ovos é selecionada de 5-30 mL. Numa outra forma de realização preferida, a dose é selecionada de 5-15 mL. Numa forma de realização particular, a dose é selecionada entre as seguintes: 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL, e 30 mL da preparação à base de ovos.

Em geral, a dose diária da preparação à base de ovos para um mamífero, utilizada para finalidades terapêuticas nas áreas farmacêutica ou veterinária, é de 3-48 mL, que pode ser administrada conjuntamente com excipientes ou veículos farmacêutica ou veterinariamente aceitáveis, tais como mencionados acima. Numa forma de realização mais preferida, a dose diária é de 5-30 mL. Numa forma de realização ainda mais preferida, a dose diária é de 5-15 mL. Numa forma de realização particular, a dose diária é selecionada entre as seguintes: 3 mL, 5 mL, 6 mL, 9 mL, 10 mL, 12 mL, 15 mL, 18 mL, 20 mL, 21 mL, 24 mL, 25 mL, 27 mL, 30 mL, 36 mL, 42 mL, e 48 mL da preparação à base de ovos. A dose específica a ser administrada irá depender de diversos fatores, tais como o tipo de mamífero, incluindo

um ser humano, o seu peso, bem como da gravidade dos sintomas.

Tal como mencionado acima, a preparação à base de ovos da invenção pode ser administrada a mamíferos, incluindo seres humanos, sem quaisquer aditivos, excipientes ou veículos, ou na forma de uma composição farmacêutica, veterinária ou cosmética. Em geral, a dose utilizada para finalidades cosméticas é inferior à dosagem utilizada para finalidades terapêuticas.

O termo "agente analgésico", tal como utilizado no presente documento, refere-se a um agente com o objetivo de aliviar a dor aguda ou crónica. A dor crónica designa uma dor contínua durante seis meses, que aparece após a recuperação de uma lesão num tecido e que resulta em dor aguda.

Numa forma de realização preferida, a condição patológica relacionada com a dor é selecionada entre a artrite, artrose e dor de costas. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica relacionada com a dor é a síndrome da fadiga crónica. Numa forma de realização mais preferida, a condição patológica relacionada com a dor é a fibromialgia.

É também parte da invenção, a preparação à base de ovos para utilização no tratamento de condições patológicas degenerativas, isto é, para utilização como agente antidegenerativo. Este aspeto da invenção pode também ser formulado como a utilização da preparação à base de ovos da presente invenção para a preparação de um medicamento para o tratamento de condições patológicas degenerativas. A invenção também se refere a um método de tratamento de um

mamífero, incluindo um ser humano, que sofre de uma condição patológica degenerativa, em que o referido método compreende a administração ao referido mamífero, incluindo um ser humano, de uma quantidade terapeuticamente eficaz da preparação à base de ovos da presente invenção, conjuntamente com excipientes ou veículos aceitáveis.

De preferência, o tratamento é um tratamento coadjuvante. Deste modo, a preparação à base de ovos da invenção pode ser administrada em combinação com outros agentes regeneradores conhecidos.

O termo "agente regenerador", tal como utilizado no presente documento, refere-se a um agente para promover a formação de tecidos ou a regeneração.

Numa forma de realização preferida, a condição patológica degenerativa é o envelhecimento da pele. Numa forma de realização mais preferida, a condição patológica é a psoriase. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é a esclerose múltipla. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é uma hérnia discal espinhal. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é a artrite reumatoide. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é a ataxia de Friedreich. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é uma doença neurodegenerativa. Exemplos de tais doenças neurodegenerativas incluem a doença de Parkinson, doença de Huntington, doença de Alzheimer, demência senil, e a Esclerose Lateral Amiloide (ALS).

Numa outra forma de realização, a preparação à base de

ovos da invenção é utilizada no tratamento de cicatrizes, queimaduras e abrasões.

Tal como mencionado acima, é parte da invenção a preparação à base de ovos para utilização no tratamento de condições patológicas inflamatórias, isto é, para utilização como agente anti-inflamatório. Este aspeto da invenção pode também ser formulado como a utilização da preparação à base de ovos da presente invenção para a preparação de um medicamento para tratar condições patológicas relacionadas com a inflamação. A invenção também se refere a um método de tratamento de um mamífero, incluindo um ser humano, que sofre de uma condição patológica inflamatória, em que o referido método compreende a administração ao referido mamífero, incluindo um ser humano, de uma quantidade terapeuticamente eficaz da preparação à base de ovos da presente invenção, conjuntamente com excipientes ou veículos aceitáveis.

De preferência, o tratamento é um tratamento coadjuvante. Deste modo, a preparação à base de ovos da invenção pode ser administrada em combinação com outros agentes anti-inflamatórios conhecidos.

O termo "anti-inflamatório", tal como utilizado no presente documento, refere-se a um agente com o objetivo de reduzir a inflamação.

Numa forma de realização preferida, a condição inflamatória é o cancro. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é a doença pulmonar obstrutiva crónica. Numa outra forma de realização preferida, a condição patológica é a esclerose múltipla.

Para os objetivos da presente divulgação, o termo "tratamento" significa a compensação para uma disfunção fisiológica e, mais geralmente, a redução ou mesmo a eliminação de um transtorno indesejável, cuja manifestação é especialmente uma consequência desta disfunção.

Numa outra forma de realização preferida, a preparação à base de ovos da invenção é administrada a gatos, cães e cavalos. No caso dos cães, a eficácia foi mostrada no tratamento de transtornos musculoesqueléticos tais como contusões, artrite ou artrose, através de uma melhoria da inflamação, dor e mobilidade; bem como de doenças do sistema nervoso tais como doenças inflamatórias (p. ex. meningite causada por vírus ou hérnia discal com afecção da medula espinhal) melhorando a inflamação, a regeneração nervosa e a funcionalidade. Nos gatos, a eficácia foi mostrada em particular em animais que sofrem de imunossupressão.

No caso dos cavalos, a eficácia foi mostrada no tratamento da coxeadura aguda ou crónica e de problemas de mobilidade causados por doenças degenerativas relacionadas com a idade ou adquiridas, tais como a artrite, perda de elasticidade e calcificação dos tendões. Também se mostrou a eficácia no tratamento da coxeadura aguda ou crónica, ou de outros transtornos devidos a problemas nos músculos, tendões, ossos, cartilagens ou estruturas relacionadas com as articulações; no tratamento da coxeadura aguda ou crónica devida a transtornos nos cascos de equinos ou transtornos diferentes de problemas das articulações. A preparação à base de ovos também pode ser utilizada em períodos de recuperação tais como na recuperação de uma cirurgia e na

recuperação de imobilização, como tratamento coadjuvante em combinação com analgésicos e/ou fármacos anti-inflamatórios, e como tratamento coadjuvante em casos de subnutrição, má corrida e mau desempenho em competições. A preparação à base de ovos da invenção pode também ser usada para melhorar o desempenho e a recuperação depois de competições de equinos ou em situações que envolvem um elevado gasto de energia ou metabólico. Ela pode também ser útil no tratamento de doenças neurodegenerativas, doenças vasculares, doenças iatrogénicas, doenças traumáticas, transtornos congénitos, doenças metabólicas, transtornos imunológicos, e doenças idiopáticas.

Tal como mencionado acima, a preparação à base de ovos da invenção pode também ser utilizada para finalidades cosméticas. Deste modo, a presente invenção também se refere a um uso cosmético da preparação à base de ovos tal como definida acima, como um agente de cuidado da pele. O cuidado da pele pode compreender a melhoria de pelo menos um dos sintomas que se seguem: aspereza, descamação, desidratação, pele arrepanhada, gretada e falta de elasticidade. Faz também parte da invenção, um método cosmético para o cuidado da pele de um mamífero, incluindo um ser humano, em que o referido método compreende a administração ao referido mamífero, incluindo um ser humano, de uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com excipientes ou veículos aceitáveis. Em particular, o mamífero, incluindo um ser humano, pode sofrer ou é suscetível de sofrer de pelo menos um dos seguintes sintomas: aspereza, descamação, desidratação, pele arrepanhada, gretada, e falta de elasticidade.

Para além disso, a presente invenção refere-se a uma utilização cosmética de uma preparação à base de ovos tal como definida acima, como agente de cuidado do cabelo ou do pelo. O cuidado do cabelo ou do pelo pode compreender a melhoria da estrutura do cabelo ou do pelo e/ou das propriedades físico-óticas do cabelo ou do pelo. Exemplos de propriedades físico-óticas do cabelo ou do pelo incluem: brilho, ressecamento, suavidade e flexibilidade. Numa forma de realização preferida, o cuidado do cabelo ou do pelo compreende a prevenção da perda de cabelo ou pelo e/ou a promoção do crescimento do cabelo ou do pelo. Também faz parte da invenção um método cosmético para o cuidado do cabelo ou do pelo de um mamífero, incluindo um ser humano, em que o referido método compreende a administração ao referido mamífero, incluindo um ser humano, de uma quantidade eficaz da preparação à base de ovos tal como definida acima, conjuntamente com excipientes ou veículos aceitáveis. Em particular, o cuidado do cabelo ou do pelo compreende a melhoria da estrutura do cabelo ou do pelo e/ou das propriedades físico-óticas do cabelo ou do pelo, a prevenção da perda de cabelo ou de pelo e/ou a promoção do crescimento do cabelo e/ou do pelo.

O termo "cosmético" pretende indicar uma utilização destinada, principalmente, a fornecer um efeito estético e/ou de conforto, em particular, a melhorar a aparência da pele, especificamente as propriedades da pele.

Ao longo da descrição e das reivindicações, a palavra "compreendem/compreender" e variações da palavra, não pretendem excluir outras características técnicas, aditivos, componentes, ou etapas. Para além disso, a palavra "compreendem/compreender" engloba o caso de

"consistindo em"/que consistem em". Objetivos, vantagens e propriedades adicionais da invenção tornar-se-ão evidentes para os peritos na técnica após examinação da descrição, ou poderão ser aprendidos através da prática da invenção. Os exemplos e figuras que se seguem são fornecidos a título de ilustração.

EXEMPLOS

As amostras incubadas tais como descritas nos exemplos abaixo foram obtidas por incubação de ovos de galinha fertilizados a uma temperatura de 36,8 °C durante 24 h, sucção e homogeneização da quantidade especificada de gema e de clara, e congelamento da mistura a -18 °C.

Exemplo 1: Ensaios de toxicidade oral aguda

Amostra comparativa 1, extrato embrionário (1). Um ovo de galinha fertilizado foi removido da incubadora após 24 horas. O conteúdo obtido depois de se partir a casca, formado pela gema e pela clara, foi depositado num tabuleiro esterilizado. A gema foi agitada balançando o tabuleiro até que o germe embrionário estivesse localizado numa posição dorsal e centrada. Na referida posição, foi então levada a cabo a sucção do referido germe embrionário. Alguma quantidade de gema ou de clara pode ter sido sugada.

Amostra 2, extrato de gema (2). Um ovo de galinha fertilizado foi removido da incubadora após 24 horas. O conteúdo obtido depois de se partir a casca, formado pela gema e pela clara, foi depositado num tabuleiro esterilizado; sugaram-se 5,5 mL de gema e 0,5 mL de clara.

Amostra comparativa 3, ovo não incubado (3). Partiu-se um ovo de galinha fertilizado não incubado e depositaram-se a gema e a clara num tabuleiro esterilizado; sugaram-se 5,5 mL de gema e 0,5 mL de clara.

Amostra comparativa 4, controlo enzimático (4): pepsina e lipase.

Amostra comparativa 5, meio de controlo (5): meio de cultura.

Amostra comparativa 6, ovo não fertilizado (6): Partiu-se um ovo de galinha não fertilizado e depositaram-se a gema e a clara num tabuleiro esterilizado; sugaram-se 5,5 mL de gema e 0,5 mL de clara.

Amostra comparativa 7, controlo de água (7): 6,0 mL de água.

Estas amostras foram utilizadas nos ensaios de toxicidade *in vivo* e *in vitro*. Os controlos usados nos ensaios *in vitro* e *in vivo* são descritos abaixo.

Ensaio de toxicidade aguda *in vitro*. Ensaio de viabilidade celular

Foi levada a cabo uma digestão enzimática (pepsina a 200 mg/mL, 37 °C, pH 1,5, 1 hora e lipase a 14 mg/mL, 37 °C, pH 7,5, 1,5 horas) das amostras (extrato embrionário comparativo (1), extrato de gema (2), ovo não incubado comparativo (3), ovo não fertilizado comparativo (6), e

controlo enzimático comparativo (4)). As amostras foram filtradas ($0,45\text{ }\mu\text{m}$) e diluídas até concentrações de 0,5% e 1,0% por volume em meio de cultura.

Avaliou-se a viabilidade celular de HMEC (Células Endoteliais Microvasculares Humanas) pelo método do violeta de cristal. Neste ensaio, o corante cora o DNA das células. A quantidade de corante é proporcional ao número de células vivas na cultura.

A FIG. 1 mostra os resultados. Não existem quaisquer diferenças significativas na viabilidade celular entre a preparação à base de ovos da invenção (amostra (2)) e as amostras comparativas, incluindo o controlo enzimático.

Ensaio de toxicidade oral aguda *in vivo*

Foram usados ratos-macho e fêmea Sprague Dawley numa proporção de 6/4. Os ratos tinham 4 semanas de idade. Os animais foram alojados individualmente. Foi utilizada para a alimentação, dieta convencional de laboratório para roedores (Harlan 2014) com fornecimento ilimitado de água potável. As amostras (extrato embrionário comparativo (1), extrato de gema (2), ovo não incubado comparativo (3), ovo não fertilizado comparativo (6), e controlo de água comparativo (7)) foram administradas por gavagem com um tubo orogástrico. Todos os animais foram monitorizados até aos 14 dias para avaliação da taxa de mortalidade.

Os animais foram doseados, um de cada vez, numa progressão de dose única ordenada (5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg, e 2000 mg/kg), a um mínimo de intervalos de 48 horas. O primeiro animal recebeu uma dose de 5 mg/kg. Uma vez que o

animal sobrevive, a dose para o segundo animal foi de 50 mg/kg. Uma vez que o animal sobrevive, a dose para o terceiro animal foi de 300 mg/kg. Finalmente, a dose para o quarto animal foi de 2000 mg/kg.

Não há toxicidade para qualquer das doses em qualquer das amostras (amostra 1, amostra 2 e amostra 3, tal como definidas acima).

A administração oral aguda das amostras tais como definidas acima não induziu toxicidade aguda até uma dose máxima de 2000 mg/kg após 24 horas de administração, nem quaisquer sinais de indução de mortalidade.

Para além disso, a ingestão e o crescimento dos animais são semelhantes nos animais que são alimentados com as diferentes amostras, tal como ilustrado na FIG. 2. Em particular, esta figura mostra a quantidade média de comida (em gramas) ingerida pelos animais. A FIG. 3 mostra o ganho diário de peso em termos de percentagem para os ratos-macho (coluna preta) e para os ratos-fêmea (coluna branca). Este ganho de peso foi calculado como a média dos aumentos com referência ao valor do peso da última medição por dia e é expresso em termos de percentagem. Os ratos foram pesados com intervalos de dois dias após a administração da amostra.

Exemplo 2. Efeito das diferentes amostras no modelo de células HMEC

Com base nos resultados anteriores, foi levado a cabo um ensaio para testar a via de sinalização dos fatores de crescimento de insulina. Foi monitorizada a expressão das

proteínas pAkt e p70S6K em diferentes amostras. Estas amostras foram: extrato embrionário comparativo (1), extrato de gema (2), ovo não incubado comparativo (3), ovo não fertilizado comparativo (6), controlo enzimático comparativo (4), e meio de controlo comparativo (5).

A técnica analítica usada para detetar as proteínas pAkt e p70S6K foi o *Western blot*.

A FIG. 4 e a FIG. 5 mostram os resultados. A amostra 2 mostra a ativação máxima de p70S6K e pAkt.

Exemplo 3. Inibição da apoptose

A apoptose, ou morte celular programada, é um mecanismo celular chave envolvido numa ampla variedade de processos fisiológicos.

Os ensaios de ativação da caspase foram levados a cabo usando extratos celulares. As células foram tratadas durante 4 horas com TNF α (fator de necrose tumoral) a 20 ng/mL com ciclohexamida a 30 microg/mL, e com as amostras 1, 2, 3, 4 e 5. Determinaram-se os níveis de caspase 3.

A FIG. 6 mostra a imunoreatividade da caspase 3 das amostras. A amostra da invenção, amostra 2, inibiu a apoptose em maior quantidade do que as outras amostras.

Exemplo 4-10. Usos clínicos

Os exemplos 4-10 são relativos ao uso clínico da preparação da invenção. Nos exemplos 4-10 as dosagens foram:

Dose A: 3 mL de amostra 2.

Dose B: 6 mL de amostra 2 ou 6 mL de amostra 8 (um ovo de galinha fertilizado foi removido da incubadora após 24 horas. Sugaram-se 3,6 mL de gema e 2,4 mL de clara). A amostra 2 ou a amostra 8 foram administradas num modelo aleatório.

As doses foram armazenadas congeladas. As doses foram descongeladas à temperatura ambiente dez minutos antes da ingestão. A ingestão foi levada a cabo uma hora antes das refeições. A administração foi sublingual.

Exemplo 4

Paciente: mulher, 46 anos. Hábitos não tóxicos. Paciente alérgica à penicilina.

Historial clínico: remoção de pedras das amígdalas, hiperfrouxidão dos ligamentos, síndrome femoropatelar bilateral, mastopatia fibroquística, traumatismo causado pelo trânsito, e herpes zóster.

Transtornos médicos: fibromialgia (de grau III), síndrome da fadiga crónica (de grau II), síndrome depressiva adaptativa, hipoparatiroidismo, secura das mucosas, e hiperfrouxidão dos ligamentos.

Desde 2009 a fadiga aumentou e a paciente não conseguia trabalhar. A 22.11.2010 a paciente sofreu de lombalgia, escoliose, artrose cervical e lombar, dor geral e grave durante os últimos anos, fadiga muscular após esforços muito pequenos, contratura muscular, insónia, anorgasmia,

instabilidade motora. A memória e a concentração da paciente foram afetadas. A paciente não consegue conduzir.

Foi detetado por métodos analíticos um baixo nível da hormona paratiroide (PTH) e um baixo nível de vitamina D. A hormona estimuladora da tiroide estava um pouco elevada (3,74). EMG normal (Eletromiografia). Raio X à coluna com sinais degenerativos ao nível da L4/I5 e L5/s1, e uma diminuição na altura do espaço entre as vértebras. O raio X às vértebras cervicais da coluna revelaram a presença de osteófitos C3/C4. Os ultrassons aos rins e à bexiga estavam normais. A densitometria revelou osteopenia.

Tratamento: Lyrica 75 (Pregabalina), Valdoxan (Agomelatina), Naprosyn (naproxeno), Myolastan (tetrazepam), Alprazolam (uma triazolobenzodiazepina), Duphalac (lactulose), Condrosan (Sulfato de condroitina), Hidroferol (Calcifediol), Optovte B12 (cianocobalamina), Viscofresh (carmelose de sódio) Melatonina.

A paciente iniciou o tratamento com duas doses B antes do pequeno-almoço, na segunda semana de maio de 2011, durante um mês. De seguida, a paciente tomou quatro doses B antes do pequeno-almoço e do almoço. Durante o mês de agosto, a paciente tomou cinco doses B, duas antes do pequeno-almoço, duas antes do almoço e uma antes do jantar.

Depois de quatro meses, a dor muscular e a fadiga diminuíram. A paciente recuperou a atividade física e o bom humor. A paciente melhorou o humor depressivo, a concentração, a memória, a vida sexual e o sono.

Estes resultados mostram que a preparação à base de ovos da

invenção compreende alguns nutrientes essenciais que restauram a homeostasia perdida pela fibromialgia e a síndrome da fadiga crónica.

Exemplo 5

Paciente: mulher, 32 anos. Transtornos médicos: Psoriase gutata e hipotiroïdismo, stress e sintomas de depressão.

Histórico clínico: sintomas de reação alérgica, paciente alérgico a analgésicos e antibióticos betalactâmicos

Tratamento: anti-histamínico e cortisona

Em junho de 2010, a paciente iniciou o tratamento com quatro doses A, duas antes do pequeno-almoço e duas antes do almoço, durante quatro meses. De seguida, a paciente tomou três doses B, duas antes do pequeno-almoço e uma antes do almoço. Presentemente, a paciente toma duas doses B antes do pequeno-almoço.

Após o segundo mês, a psoriase e os sintomas alérgicos melhoraram.

Estes resultados mostram que o tecido lesionado é regenerado. A preparação à base de ovos da invenção compreende múltiplos fatores de crescimento num ponto com elevada atividade, o que permite a estimulação de um mecanismo antigénico natural da pele.

Exemplo 6

Paciente: mulher, 62 anos. Transtornos médicos: Gamopatia monoclonal.

Histórico clínico: Em 2001, cancro da mama. As duas glândulas mamárias foram extirpadas.

Em maio de 2010, a paciente iniciou o tratamento com duas doses A antes do pequeno-almoço. De seguida, a paciente tomou três doses B, duas antes do pequeno-almoço e uma antes do almoço.

Em julho de 2011 a gamopatia monoclonal desapareceu.

Exemplo 7

Paciente: homem, 55 anos. Transtornos médicos: esclerose múltipla desde 1989. Primeiro aparecimento em 1985. Os primeiros dados analíticos mostraram transtornos desmielinizantes multifocais do sistema nervoso central. Anormalidades do potencial evocado somatossensitivo na cervical (SEP). O potencial evocado auditivo de tronco cerebral (AEP) mostrou protuberâncias.

Histórico clínico: em 1989 o paciente foi submetido a cirurgia neurológica; seis anos antes o paciente apresentou o súbito aparecimento de pé direito caído, que se deteriorou progressivamente para melhorar mais tarde sem tratamento. Em 1985, o paciente apresentou um episódio de visão dupla limitada no tempo. Depois disto ele mostrou fraqueza na extremidade contralateral inferior. Na exploração neurológica, foi verificada a presença de uma síndrome residual vestibular, nistagmo rotativo horizontal para o olhar direito exterior, curvatura conjugada dos índices esquerdos. Romberg positivo. Também abolição dos reflexos cutâneos abdominais e reflexos indiferentes da sola cutânea. O paciente apresentou lesões

periventriculares desmielinizantes múltiplas de predominância frontal e occipital esquerda, uma outra na parte detrás do braço, da cápsula interna esquerda, e pequenas lesões nodulares no cérebro e no tronco. Não se verificaram lesões na espinha.

Em janeiro de 2011, o paciente apresentou esclerose múltipla, prisão de ventre, incontinência urinária, o paciente transporta um cateter permanente na bexiga, úlcera de decúbito, intolerância ao movicol (macrogol), o paciente não tinha hábitos tóxicos, não tinha alergias nem intolerância alimentar, não tinha mobilidade, o paciente utilizava uma cadeira de rodas para a mobilidade, o paciente estava consciente. A qualidade de vida durante 25 anos de evolução degenerativa da doença tinha mostrado diferentes condições patológicas com repercussão na condição mental. A comunicação verbal foi danificada, não obstante o paciente efetuava o esforço de comunicação a um nível sonoro muito baixo, sendo observados níveis de ansiedade. O paciente efetuou tratamento homeopático e fisioterapia uma vez por semana.

Em fevereiro de 2011, o paciente iniciou o tratamento com cinco doses B, três antes do pequeno-almoço e duas antes do almoço, durante três meses. De seguida, o paciente tomou duas doses A e cinco doses B, duas doses A e duas doses B antes do pequeno-almoço, duas doses B antes do almoço e uma dose B antes do jantar.

Depois do tratamento, o fisioterapeuta notou que o paciente desenvolveu força na extremidade inferior.

O paciente apresentou movimento voluntário dos dedos dos pés e dos dedos das mãos, e o paciente sentiu profunda sensibilidade. Após o tratamento, a defecação era normal e não tinha flatulência.

Exemplo 8

Paciente: homem, 55 anos. Transtornos médicos: síndrome da cauda equina devida a hérnia discal com lesão axonal bilateral extremamente grave L5-S1. Não apareceram quaisquer sinais de reinervação desde 2004.

Histórico clínico: o paciente sofre de dor lombar contínua. Em 2004 levou a paralisia da parte inferior do corpo. Foi diagnosticada ciática. Após três dias com dores, foi diagnosticada hérnia discal. O paciente foi submetido a cirurgia numa clínica. Depois da operação o paciente iniciou a reabilitação. A reabilitação estendeu-se por 4 meses. Depois da reabilitação, o paciente apresentou mobilidade no pé esquerdo. O paciente pôs-se de pé. O paciente experimentou dor lombar intensa. O paciente perdeu a sensibilidade e a mobilidade no pé direito. Andar estranho.

Em abril de 2011, o paciente iniciou o tratamento com oito doses B, quatro antes do pequeno-almoço e quatro antes do jantar, durante cinco meses.

Depois de três semanas, o paciente tinha mais energia. Depois de quatro semanas, o paciente não sentia dor lombar. O paciente sentiu o pé esquerdo e elevou os dedos dos pés.

Em agosto de 2011, foram verificados os primeiros sinais de

reinervação nos músculos da panturrilha esquerda. A reinervação colateral do músculo da tibia esquerda anterior aumentou progressivamente.

Exemplo 9

Paciente: mulher, 20 anos. Transtornos médicos: Ataxia de Friedreich com diversos sintomas, por exemplo fraqueza muscular nos braços e pernas, o paciente tinha dificuldades em andar e não conseguia andar sozinho.

Histórico clínico: o paciente recebeu tratamento com células estaminais.

Em maio de 2011, a paciente iniciou o tratamento com uma dose B antes do pequeno-almoço. Durante três meses a dose foi aumentada até seis doses B, três antes do almoço e três antes do jantar.

O tratamento restaurou a vitalidade do paciente. O paciente tornou-se mais resistente ao esforço físico. O paciente melhorou a sensibilidade no pé. O paciente melhorou a coordenação das extremidades inferiores.

Exemplo 10

Paciente: homem, 76 anos. Transtornos médicos: doença pulmonar obstrutiva crónica (COPD) de grau IV, diabetes II, fibrilação auricular, trombose venosa profunda das extremidades inferiores, hipoventilação, síndrome respiratória aguda grave.

Histórico clínico: terapia com oxigénio e tratamento permanente com antibiótico.

Em 2005, o paciente sofreu de enfisema pulmonar. O paciente tem um historial de fumador. O paciente fumou até aos 60 anos. Em 2009 o paciente sofreu de taquicardia, dor torácica. O paciente sofreu de paroxística supraventricular. Oxigénio no domicílio. Em 2010, o paciente foi tratado de flebite bilateral com Sintrom. Terapia com bifosfonato. Queda patológica em T7. O paciente sofreu de letargia e bradicardia com tonturas.

Em maio de 2011, o paciente iniciou o tratamento com três doses B, duas antes do pequeno-almoço e uma antes do almoço. Um mês mais tarde a dose foi aumentada até seis doses B, duas antes do pequeno-almoço, duas antes do almoço e duas antes do jantar.

Após o tratamento, o paciente sentiu-se melhor, o tratamento restaurou a vitalidade do paciente. O paciente melhorou o problema da gastrite. O paciente melhorou dos sintomas de COPD. A crise respiratória recorrente desapareceu. Não foi necessário o oxigénio no domicílio. Três meses depois do paciente ter iniciado o tratamento, o paciente não necessitava mais de oxigénio.

Exemplo 11: Estudo de Encefalite Autoimune Experimental

A Encefalite Autoimune Experimental (EAE) é um modelo animal usado para estudar a esclerose múltipla (MS). Neste modelo de EAE, a ativação do sistema imune foi induzida por imunização com Glicoproteína Oligodendrocítica da Mielina (MOG). Cerca de 10 dias após a imunização com MOG (fase inicial), os animais começaram a sofrer de distúrbios motores que aumentaram gradualmente, atingindo o seu pico

após 20-21 dias (fase do auge). Nos dias que se seguiram, os animais entraram em remissão até antes de progredirem para uma fase crónica ao dia 30. Alguns dos animais não atingiram a fase crónica e morreram durante a fase do auge.

O estudo cego duplo foi conduzido usando 6 grupos experimentais de ratinhos-fêmea C57BL/6:

- Grupo A: animais de controlo sem indução de EAE, não tratados ($n = 4$).
- Grupo B: animais de controlo sem indução de EAE, tratados com placebo (amostra comparativa 6, ovo não fertilizado (6)) ($n = 4$).
- Grupo C: animais de controlo sem indução de EAE, tratados com a preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) ($n = 4$).
- Grupo D: animais com indução de EAE, sem tratamento ($n = 10$).
- Grupo E: animais com indução de EAE, tratados com placebo (amostra comparativa 6, ovo não fertilizado (6)) ($n = 10$).
- Grupo F: animais com indução de EAE, tratados com a preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) ($n = 10$).

A indução de EAE foi efetuada através de imunização subcutânea na região traseira com uma emulsão de MOG35-55 (peptídeo encefalitogénico de glicoproteína oligodendrocítica da mielina) em adjuvante completo de Freund contendo micobactéria inativada da tuberculose. Para além disso, os ratinhos receberam uma administração de toxina da tosse convulsa imediatamente e 48 horas depois da

imunização. Os diferentes tratamentos foram administrados diariamente à mesma hora durante 43 dias desde o dia da imunização até ao dia em que foram sacrificados. Foi usada a administração oral. Foi dado aos animais acesso ao tratamento durante duas horas numa gaiola isolada. No caso em que o animal não tenha tomado a dose completa, esta foi administrada usando uma seringa. A dose administrada foi de 0,5 mL por animal por dia. Durante o estudo, os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura e humidade, e tinham acesso sem restrições a água e comida.

Foram registados diariamente o peso e os sintomas clínicos dos animais. Os sintomas clínicos foram avaliados usando o teste de classificação clínica que se segue: 0: sem sintomas clínicos; 0,5: perda parcial do tom da cauda; 1: paralisia da cauda; 2: paraparesia dos membros posteriores; 3: paralisia completa dos membros posteriores; 4: tetraparesia; e 5: tetraplegia.

Resultados

- 1) Os efeitos da administração da preparação à base de ovos da invenção (extrato de ovo (2)) para os animais de controlo sem indução de EAE (Grupo C) foram comparáveis aos observados nos grupos de controlo A e B, sem quaisquer modificações no peso e nos sintomas clínicos.
- 2) A administração da preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) a animais com indução de EAE (Grupo F) mostrou efeitos benéficos em comparação com os grupos D e E. Em particular, foi evitada em

parte a perda de peso nos animais do Grupo F.

3) A administração da preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) a animais com indução de EAE (Grupo F) induziu também grandes mudanças no quadro clínico da EAE em relação aos grupos D e E. Deste modo, os animais do Grupo F apresentaram uma gravidade global inferior no quadro clínico da doença (FIG. 7). Foram observadas diferenças durante a fase inicial, em que os animais do Grupo F mostraram um atraso no dia do aparecimento de sintomas em relação aos animais dos grupos D e E (FIG. 7A). Os valores mais elevados de classificação clínica na fase do auge para os animais do Grupo F (cerca de 3) foram mais baixos que os dos animais dos grupos D e E (em alguns casos atingiu-se mesmo tetraparesia, classificação 4) (FIG. 7B). Durante a fase crónica, os animais do Grupo F tornaram-se crónicos, com valores mais baixos de classificações clínicas, cerca de 1,5. Em contraste, os animais no grupo D apresentaram uma variabilidade maior, atingindo diferentes graus de envolvimento clínico (FIG. 7C).

4) Finalmente, foi observada uma redução significativa da mortalidade nos animais do Grupo F em comparação com os animais do Grupo D. Em particular, 20% dos animais do Grupo F morreram, enquanto que 45% dos animais do Grupo D morreram.

Modelo de regeneração neuronal

A axotomia é um modelo de lesão neuronal usado para estudar a regeneração neuronal. Neste modelo, o nervo facial do lado direito foi cortado transversalmente (axotomia) ao

nível do forame. A axotomia levou a degeneração walleriana de todos os axónios seccionados e a degeneração retrógrada num número importante de neurónios motores localizados no núcleo facial do tronco cerebral ipsilateral. Sabe-se que apenas aqueles neurónios do núcleo facial que são capazes de regenerar os seus axónios, conseguem sobreviver. O núcleo facial contralateral não lesionado pode ser usado como controlo.

O estudo foi conduzido usando 5 grupos experimentais de ratinhos C57BL/6:

- Grupo A: animais de controlo não submetidos a axotomia, não tratados.
- Grupo B: animais de controlo não submetidos a axotomia, tratados com placebo (amostra comparativa 6, ovo não fertilizado (6)) (n = 4).
- Grupo C: animais de controlo não submetidos a axotomia, tratados com a preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) (n = 4).
- Grupo D: animais axotomizados, tratados com placebo (amostra comparativa 6, ovo não fertilizado (6)) (n = 8).
- Grupo E: animais axotomizados, tratados com a preparação à base de ovos da invenção (extrato de gema (2)) (n = 10).

Os diferentes tratamentos foram administrados diariamente à mesma hora desde o dia da axotomia, até ao dia do sacrifício. A dose administrada foi de 0,5 mL por animal por dia. Os animais tiveram acesso ao tratamento durante duas horas numa gaiola isolada. No caso do animal não ter

tomado a dose completa, esta foi administrada usando uma seringa. Durante o estudo, os animais foram mantidos sob condições controladas de temperatura e humidade, e tinham acesso sem estrições a água e comida.

A análise da regeneração axonal foi levada a cabo por meio da quantificação de neurónios motores marcados retrogradamente no núcleo facial com Fluorogold. Este marcador retrógrado foi injetado subcutaneamente ao nível das vibrissas em ambos os lados (ipsilateral e contralateral) ao 35º dia após a axotomia. Nesta altura, os neurónios sobreviventes foram capazes de regenerar os axónios de volta aos seus tecidos-alvo.

Os axónios regenerados dos neurónios no núcleo facial que alcançaram o sítio em que o Fluorogold foi injetado, incorporaram-no e transportaram-no retrogradamente para o soma neuronal, que emitiu uma fluorescência intensa ao comprimento de onda apropriado (385 nm).

Após mais 7 dias de sobrevivência, isto é, 42 dias depois da axotomia, os animais de diferentes grupos foram anestesiados, sacrificados por perfusão cardíaca com paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1 M, pH 7,4, e convenientemente processados para exame histológico. Para esta finalidade, cada um dos cérebros, após ser preservado em sacarose a 30% e congelado em isopentano, foi seccionado usando um crióstato, e todos os cortes obtidos, com uma espessura de 30 micrões, foram recolhidos em lâminas de vidro gelatinizadas. Foram tiradas fotografias de todas as secções que continham os núcleos faciais ipsilateral e contralateral de cada animal com um microscópio de

epifluorescência para posterior quantificação. Os perfis neuronais fluorescentes (marcados com Fluorogold) foram contados nas fotografias obtidas e posteriormente foi aplicada a correção Abercrombie para avaliar estereologicamente o número real de neurónios marcados em cada núcleo facial. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente por ANOVA e teste T de Student.

Resultados

- 1) Não foram observadas quaisquer diferenças significativas no número de neurónios marcados com Fluorogold em animais tratados não submetidos a axotomia (Grupos B e C) (FIG.8A). Isto indica que o tratamento com a preparação à base de ovos da invenção (Grupo C) em 42 dias de administração contínua é seguro e não produz qualquer tipo de neurodegeneração nos núcleos faciais objeto deste estudo.
- 2) O número de neurónios marcados com Fluorogold em animais axotomizados tratados (Grupos D e E) e em animais tratados não submetidos a axotomia (Grupos B e C) foi semelhante (FIG. 8B). Isto validou o lado contralateral dos grupos D e E como controlos no estudo quantitativo.
- 3) Nos grupos D e E, a axotomia do nervo facial induziu degeneração de uma percentagem significativa de neurónios no núcleo facial (FIG. 8C) que resultou em menos neurónios marcados com Fluorogold quando se compara o lado ipsilateral com o contralateral. No entanto, o tratamento com a preparação à base de ovos da invenção (amostra 2) (Grupo E) exerceu um efeito

benéfico numa proporção significativa da população de animais axotomizados. Isto foi mostrado através de um grau de regeneração invulgarmente elevado, referido como o grau de regeneração axonal, que é superior a 50% de um valor médio esperado de regeneração. Na FIG. 8C, a linha horizontal acima de 400 indica o grau de regeneração invulgar. Aproximadamente 38% dos animais do Grupo E e apenas 14% dos animais do Grupo D apresentaram um número de neurónios invulgarmente elevado, marcados com Fluorogold.

REFERÊNCIAS CITADAS NO PEDIDO

- L. Coussens *et al.* em "Inflammation and cancer", Nature 2002, vol. 420, págs. 860-867
- EP0904090
- CA2197050
- WO0191777
- WO2009115429

REIVINDICAÇÕES

1. Uma preparação à base de ovos que comprehende uma mistura da gema e da clara extraídas de um ovo fertilizado e incubado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas, em que a mistura da gema e da clara se encontra numa razão em que a quantidade da clara está comprehendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema.
2. A preparação à base de ovos de acordo com a reivindicação 1, em que a quantidade de clara está comprehendida entre 5% e 30% por volume do volume da gema.
3. A preparação à base de ovos de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-2, em que a quantidade de clara é de 10% por volume do volume da gema.
4. A preparação à base de ovos de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-3, em que a clara é clara fluida interna.
5. A preparação à base de ovos de acordo com a reivindicação 4, que comprehende ainda clara fluida externa e/ou clara densa, numa quantidade tal que a soma da clara fluida interna, clara fluida externa, e clara densa na preparação à base de ovos constitui até 99% por volume da soma dos volumes da gema e do total das claras.

6. Um processo para preparar a preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5, que compreende:

(a) a incubação de um ovo fertilizado durante um período compreendido entre 18 horas e 36 horas; e opcionalmente a refrigeração do ovo incubado obtido;

(b) a recolha de uma quantidade de gema e de uma quantidade de clara do ovo fertilizado e incubado obtido na etapa anterior, e mistura da gema e da clara numa proporção em que a quantidade da clara está compreendida entre 2% e 40% por volume do volume da gema;

(c) a homogeneização da mistura da gema e da clara obtida na etapa b); e

(d) o arrefecimento brusco da preparação à base de ovos obtida na etapa c).

7. O processo de acordo com a reivindicação 6, em que a etapa de arrefecimento brusco compreende uma etapa de congelamento ou uma etapa de liofilização.

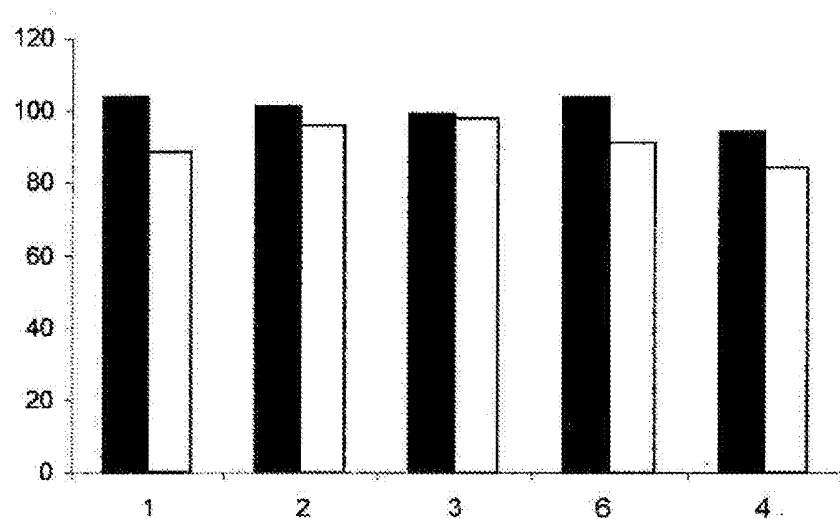
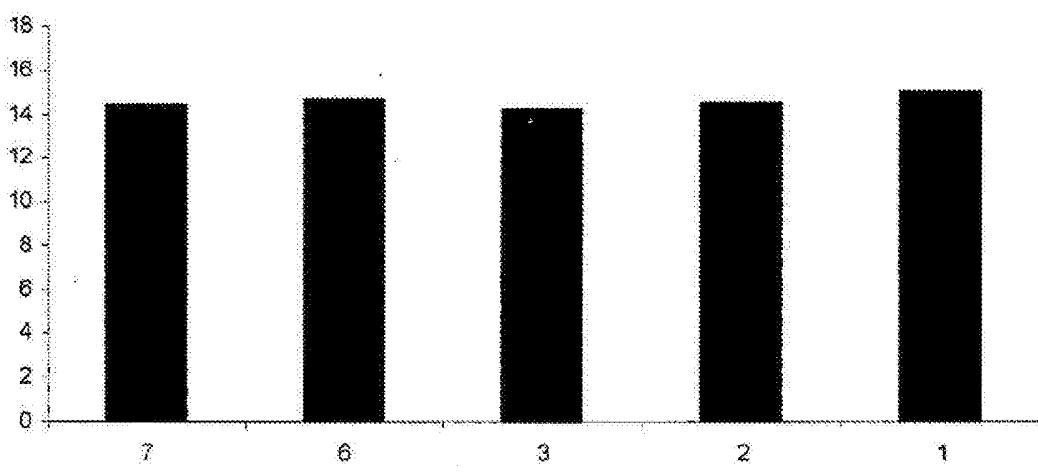
8. Um alimento funcional ou um suplemento dietético que compreende uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5.

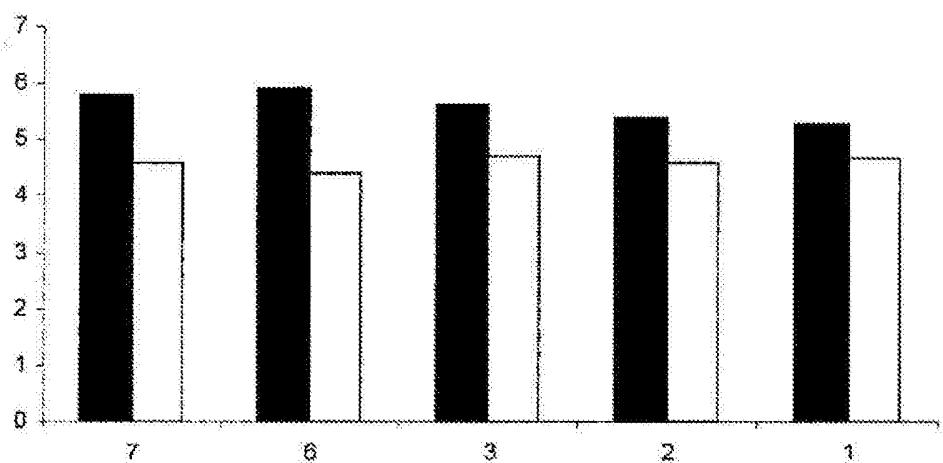
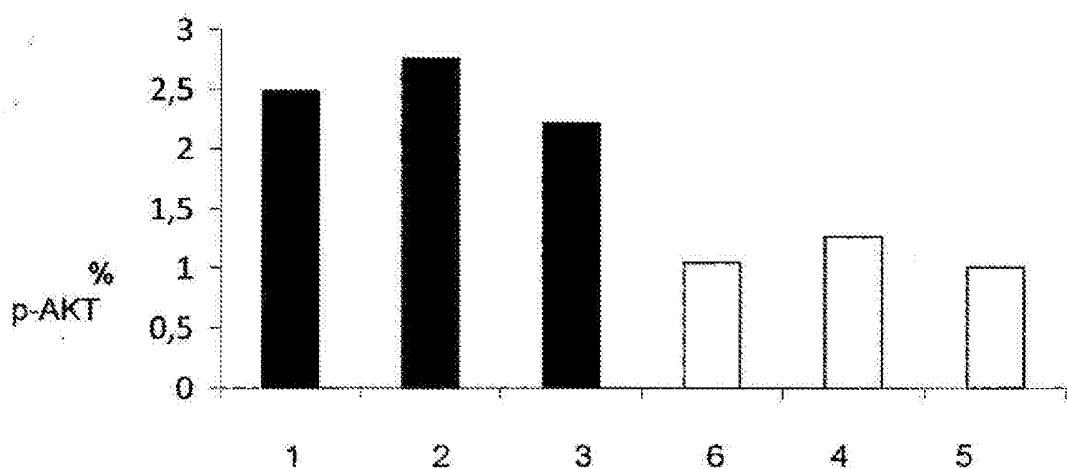
9. Uma composição farmacêutica, veterinária ou cosmética que compreende uma quantidade eficaz de uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das

reivindicações 1-5, conjuntamente com um ou mais excipientes ou veículos farmacêuticos, veterinários ou cosméticos, respetivamente.

10. Uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5, para uso como agente analgésico no tratamento da dor aguda ou crónica em condições patológicas relacionadas com a dor.
11. A preparação à base de ovos para uso de acordo com a reivindicação 10, em que a condição patológica relacionada com a dor é a fibromialgia.
12. Uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5, para uso como agente regenerador no tratamento de condições patológicas degenerativas.
13. A preparação à base de ovos de acordo com a reivindicação 12, em que a condição patológica é selecionada do grupo que consiste em psoriase, esclerose múltipla, e ataxia de Friedreich.
14. Uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5, para uso como agente anti-inflamatório no tratamento de condições patológicas inflamatórias.
15. A preparação à base de ovos para uso de acordo com a reivindicação 14, em que a condição patológica é o cancro.

16. Uso cosmético de uma preparação à base de ovos tal como definida em qualquer uma das reivindicações 1-5, como agente de cuidado da pele, ou como agente de cuidado do cabelo ou do pelo.

**FIG. 1****FIG. 2**

**FIG. 3****FIG. 4**

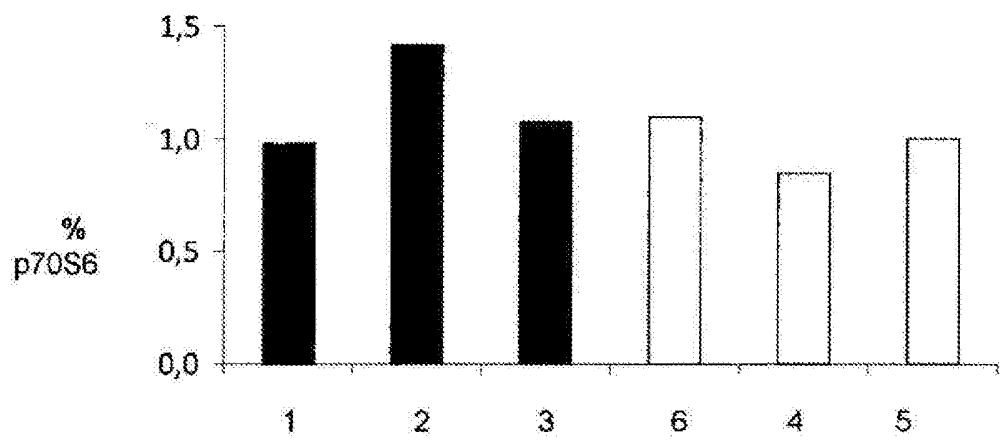


FIG.5

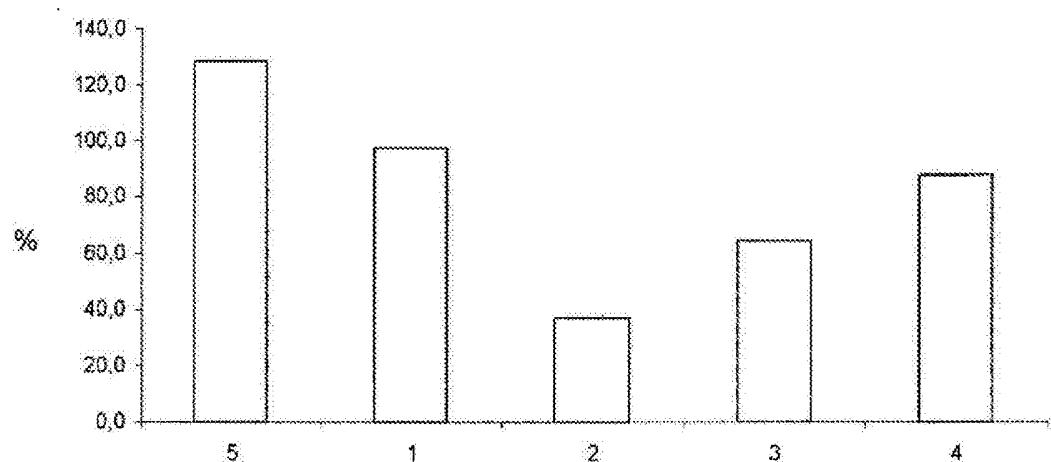


FIG.6

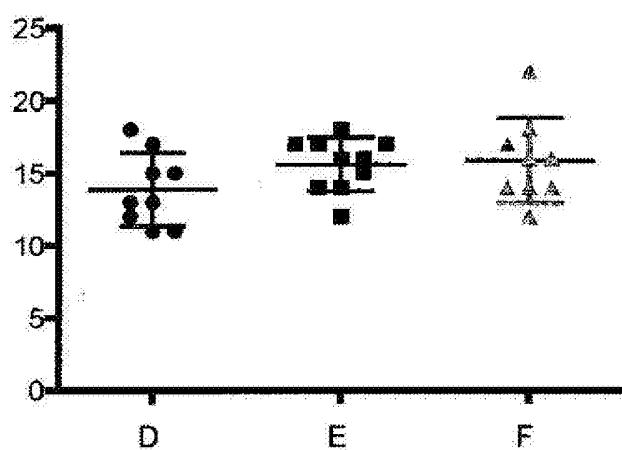


FIG. 7A

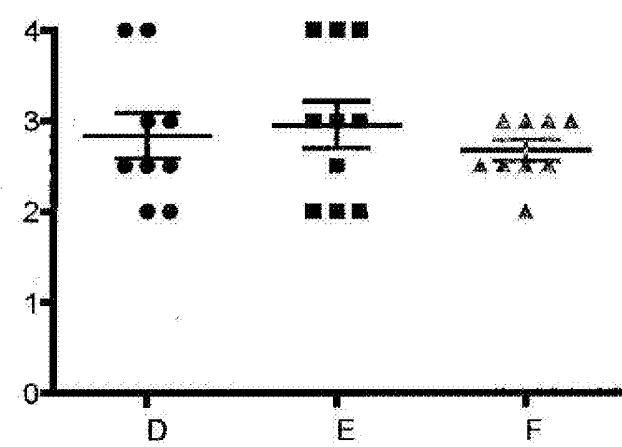


FIG. 7B

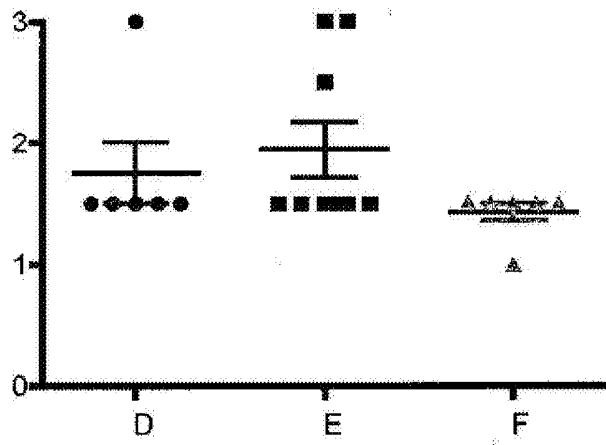


FIG. 7C

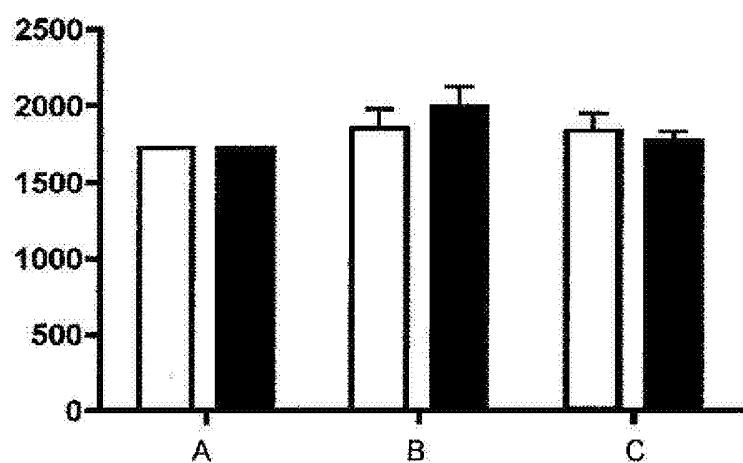


FIG. 8A

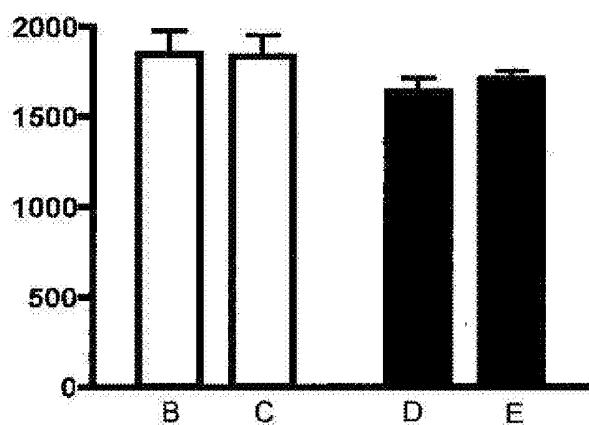


FIG. 8B

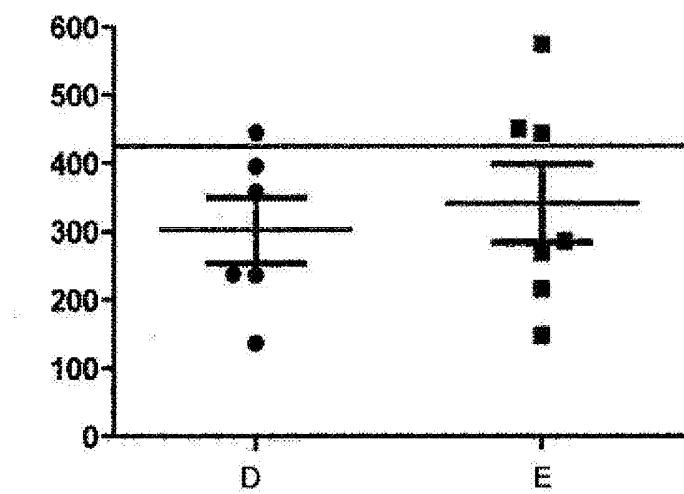


FIG. 8C