



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e Comércio Exterior
Instituto Nacional de Propriedade Industrial

(21) **PI0708361-0 A2**

(22) Data de Depósito: 22/02/2007
(43) Data da Publicação: 24/05/2011
(RPI 2107)



(51) *Int.Cl.:*
A61K 31/382 2006.01
A61K 31/353 2006.01

(54) Título: **COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA A INDUÇÃO DE CRESCIMENTO ÓSSEO E PARA A INIBIÇÃO DE PERDA ÓSSEA**

(30) Prioridade Unionista: 28/02/2006 US 60/777,666

(73) Titular(es): Nestec S.A

(72) Inventor(es): Yuanlong Pan

(74) Procurador(es): Dannemann, Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) Pedido Internacional: PCT US2007004747 de 22/02/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/100671 de 07/09/2007

(57) Resumo: COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA A INDUÇÃO DE CRESCIMENTO ÓSSEO E PARA A INIBIÇÃO DE PERDA ÓSSEA. A presente invenção refere-se a composições úteis para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição da perda óssea em um animal, compreendendo uma ou mais isoflavonas ou metabólitos de isoflavona e métodos para a indução do crescimento ósseo e para a inibição de perda óssea em um animal utilizando tais composições. As composições e os métodos são particularmente úteis para animais na pós-menopausa, na pós-andropausa, gonadectomizados, ooforectomizados ou castrados



PI0708361-0

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA A INDUÇÃO DE CRESCIMENTO ÓSSEO E PARA A INIBIÇÃO DE PERDA ÓSSEA**".

Antecedentes da Invenção

5 Campo da Invenção

A presente invenção refere-se de maneira geral, a composições e a métodos para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea e, particularmente, ao aplicação de isoflavonas ou de seus metabólitos para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea.

10 Descrição da Técnica Relacionada

A remodelagem óssea é um ciclo contínuo. O ciclo começa com resorção óssea mediada por osteoclastos e é seguida por restauração de massa óssea por osteoblastos. O método de remodelagem óssea é primariamente regulado por hormônios sexuais, especialmente estrogênio. No entanto, fatores genéticos, nutricionais e ambientais podem influenciar a remodelação óssea. O estrogênio mostrou desempenhar um importante papel na remodelagem óssea em machos, assim como em fêmeas. O estrogênio reduz a remodelagem óssea por supressão da osteoclastogênese e da osteoblastogênese a partir de precursores de medula, inibe a resorção óssea por redução de citocinas pró-ressortivas, e regula a longevidade e as atividades de osteoblastos.

A desregulação do ciclo de remodelagem óssea ocorre frequentemente. Uma velocidade mais rápida de dissolução de tecido ósseo e de perda óssea do que da restauração de tecido ósseo é comumente observada entre a população idosa. A perda óssea patológica é denominada osteoporose. A perda óssea acelerada e a osteoporose afetam as fêmeas de maneira desproporcional. É bem aceito que a deficiência de estrogênio, que incide no início da menopausa em fêmeas, é um contribuinte primário para tal perda óssea. No entanto, a perda óssea e a osteoporose são observadas em machos.

Embora não exista equivalente fisiológico para a menopausa nos machos, muitos machos de fato experimentam uma diminuição associa-

da à idade da circulação de hormônios sexuais e hipogonadismo. Refere-se a estas mudanças como andropausa. O hipogonadismo e uma diminuição de estrogênio contribuem para a perda óssea e osteoporose em machos. Portanto, tanto a menopausa quanto a andropausa são fatores de risco para a perda óssea.

Em adição à menopausa e à andropausa, a remoção cirúrgica de órgãos sexuais afeta os níveis de hormônios sexuais, tal como o estrogênio. Tal remoção pode afetar o tamanho, massa e densidade do osso. Em animais, procedimentos, tais como gonadectomia, ooforectomia, ovariectomia, castração e os similares, são freqüentemente realizados para o controle populacional. O efeito prático de uma gonadectomia em fêmeas animais maduras é o equivalente cirúrgico da menopausa que ocorre naturalmente em fêmeas animais idosas, porque o procedimento diminui, de maneira efetiva, os níveis circulantes de hormônios sexuais. Depois da menopausa, a biossíntese extragonadal de estrogênio é também importante para a função normal de muitos tecidos e sistemas, incluindo o osso em machos animais. A testosterona circulante a partir dos testículos parece ser o principal precursor para a biossíntese de estrogênio extragonadal. Machos animais mantêm concentrações suficientes de testosterona circulante ao longo da vida, para dar suporte à biossíntese extragonadal de estrogênio. Portanto, machos animais usualmente não padecem de osteoporose até muito tarde na vida. Entretanto, a remoção cirúrgica de órgãos sexuais em machos animais maduros conduz a perda completa da produção de androgênio e de estrogênio pelos testículos. Tal remoção também resulta na perda do principal precursor para a biossíntese de estrogênio extragonadal, que não ocorre naturalmente em machos animais.

A resistência óssea é grandemente dependente da densidade óssea e da qualidade óssea. Em seres humanos, se a massa óssea de pico não for alcançada na infância e na adolescência, surge um risco de osteoporose tardia na vida. A remoção cirúrgica de órgãos sexuais em machos e fêmeas animais imaturos e em crescimento evita que os animais atinjam a massa óssea de pico por redução da acumulação de densidade e teor mine-

ral ósseo. Como tal, a gonadectomia pode ser considerada um fator de risco para o crescimento e o desenvolvimento ósseos prejudicados em animais jovens em crescimento.

5 A terapia de reposição de hormônios e a suplementação alimentar são freqüentemente usadas para combater os efeitos de circulação de hormônios sexuais diminuída na remodelagem óssea, particularmente na perda óssea. Com respeito à suplementação alimentar, fitoestrogênios alimentares podem aperfeiçoar a massa óssea e a rotação óssea e desempenham um papel na osteogênese. Em adição, acredita-se que fitoestrogênios
10 alimentares tenham efeitos benéficos em desacelerar ou inibir a perda óssea. Entretanto, quase todos os estudos relacionados aos efeitos benéficos de fitoestrogênios, tais como isoflavonas de soja em ossos foram conduzidos ou em fêmeas animais sob as condições de menopausa induzida cirurgicamente ou em mulheres em pós-menopausa. Existe uma escassez de dados
15 com respeito aos efeitos de isoflavonas sobre o crescimento ósseo em animais em crescimento e em machos animais.

Os fitoestrogênios são entes químicos produzidos por plantas, que têm uma estrutura similar aos estrogênios de mamíferos. Os fitoestrogênios são subdivididos em três classificações principais, isto é, coumestanos, lignanos e isoflavonas. Mostrou-se que as isoflavonas têm efeitos positivos sobre a saúde óssea.
20

Dado o risco de (1) crescimento e desenvolvimento ósseos prejudicados e (2) perda óssea acelerada e osteoporose em animais, que estejam na menopausa ou na andropausa, ou que tenham sido gonadectomizados, especialmente quando os animais estiverem em crescimento e seus sistemas esqueléticos ainda não tenham se amadurecido, existe uma demanda por novas composições e métodos que promovam crescimento ósseo saudável e que reduzam ou inibam a perda óssea em animais sem o risco de efeitos colaterais perigosos associados com a terapia de reposição hormonal tradicional.
25
30

Sumário da Invenção

Portanto, é um objetivo da presente invenção fornecer composi-

ções e métodos para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea.

É um outro objetivo da presente invenção fornecer composições e métodos para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal em pós-menopausa, em pós-andropausa, gonadectomizado, ooforectomizado ou castrado.

É um objetivo adicional da invenção fornecer artigos de manufatura na forma de kits, que contenham combinações das isoflavonas, ou de seus metabólitos, da presente invenção, composições alimentícias, compostos e dispositivos que sejam úteis para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal.

Um ou mais desses outros objetivos são alcançados usando-se composições e métodos novos para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea. Em geral, as composições compreendem uma ou mais isoflavonas, ou metabólitos da mesma, em quantidades eficazes para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea. As isoflavonas incluem pelo menos um de daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina. Além disso, as isoflavonas, ou seus metabólitos, são isoflavonas de soja, ou seus metabólitos, tal como equol. As composições podem compreender ingredientes adicionais, tais como substâncias que promovam ou mantenham crescimento ósseo saudável geral ou que inibam a perda óssea, tais como DT56a, androstenediona, deidroepiandrosterona (DHEA), silício, ácido linoléico conjugado (CLA) ou ácido orto-silícico.

Outros e adicionais objetivos, características e vantagens da presente invenção serão prontamente evidentes para os versados na técnica.

Descrição Detalhada da Invenção

Definições

As seguintes abreviações podem ser usadas aqui: CLA, ácido linoléico conjugado; BCS, classificação de condição do corpo; BMR, veloci-

dade metabólica basal; MER, necessidade de energia de manutenção; DEXA, absorptiometria de raios X de energia dual; BMC, teor mineral ósseo; BMD, densidade mineral óssea; BW, peso do corpo; e SGM, farinha de germe de soja.

5 O termo “animal” significa um ser humano ou outro animal, incluindo animais aviários, bovinos, caninos, eqüinos, felinos, hircinos, murinos, ovinos e porcinos, que poderiam se beneficiar da indução de crescimento ósseo ou da inibição da perda óssea.

10 O termo “agentes que afetam o osso” significa qualquer meio, qualquer composto, composição ou fármaco útil para a indução do crescimento ósseo ou para a inibição da perda óssea em um animal, diferente das isoflavonas, ou de seus metabólitos, da presente invenção, por exemplo, bisfosfonatos, raloxifeno, estrogênio, calcitonina, risedronato e alendronato.

15 O termo “crescimento ósseo” significa qualquer aumento de células ou de tecido ósseos, aumento de massa óssea, aumento de minerais ósseos, aumento de densidade óssea, aumento de comprimento ósseo ou aumento de largura óssea, conforme medidos por quaisquer meios adequados na técnica.

20 O termo “perda óssea” significa qualquer diminuição de células ou tecido ósseos, diminuição de massa óssea, diminuição de minerais ósseos ou diminuição de densidade óssea, conforme medidos por quaisquer meios adequados na técnica.

25 O termo “linoléico conjugado” ou “CLA” é um termo coletivo usado para designar uma mistura de isômeros de posição e geométricos do ácido graxo essencial (n - 6), ácido linoléico.

O termo “animal de companhia” significa qualquer animal domesticado, incluindo, sem limitação, gatos, cães, coelhos, porquinhos da Índia, furões, hamsters, camundongos, roedores, cavalos, vacas, cabras, ovelhas, burros, porcos e os similares.

30 O termo “alimentação para pequenos animais completa e nutricionalmente balanceada” significa uma alimentação para pequenos animais, que contenha todos os nutrientes necessários em quantidades e proporções

apropriadas, com base em recomendações de autoridades reconhecidas no campo da nutrição animal de companhia, e é, portanto, capaz de servir como uma fonte única de ingestão de alimento para manter a vida e promover a produção sem a adição de fontes nutricionais suplementares. Composições de alimentos para pequenos animais nutricionalmente balanceadas são largamente conhecidas e largamente usadas na técnica.

O termo "suplemento alimentar" significa um produto que pretende ser ingerido em adição à dieta normal de um animal.

O termo "quantidade eficaz" significa uma quantidade de um composto, material e/ou forma de dosagem conforme descritos aqui, que possam ser eficazes para se conseguir um resultado biológico particular. Tais resultados podem incluir, mas, não estão limitados a, a indução de crescimento ósseo saudável em animais gonadectomizados em crescimento, jovens, e a inibição de perda óssea em animais adultos, que estejam em pós-menopausa ou em pós-andropausa ou que tenham sido gonadectomizados. Tal atividade efetiva pode ser conseguida, por exemplo, causando-se a ingestão de composições da presente invenção.

O termo "gonadectomizado" significa um animal que tenha tido seus órgãos germinativos (testículos ou ovários) removidos cirurgicamente.

O termo "composição de alimento para seres humanos" significa qualquer composição pretendida para ingestão por um ser humano.

O termo "em conjunção" significa que uma isoflavona, ou seus metabólitos, composição de alimento, agentes que afetem os ossos ou outro composto ou composição da presente invenção, são administrados a um animal (1) em conjunto em uma composição de alimento ou (2) separadamente na mesma frequência ou em diferente frequência usando a mesma ou diferentes rotas de administração, aproximadamente no mesmo tempo ou periodicamente. "Periodicamente" significa que o agente é administrado em um programa de dosagem aceitável para um agente específico e que o alimento é dado a um animal de maneira rotineira, conforme apropriado para o animal em particular. "Aproximadamente no mesmo tempo" significa, em geral, que o alimento e o agente são administrados no mesmo tempo ou dentro

de cerca de 72 horas um do outro. “Em conjunção”, especificamente inclui a esquemas de administração, nos quais agentes que afetam os ossos são administrados durante um período descrito, e as composições compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, são administrados indefinidamente.

O termo “isoflavonas” significa 3-fenil-cromonas, formas isoméricas de flavonas, nas quais o grupo benzeno está ligado à posição 3 do anel de benzopirano ao invés da posição 2, e seus respectivos metabólitos. Sempre que o termo “isoflavonas” for usado aqui, pretende-se englobar derivados e metabólitos de isoflavonas, com exemplos particulares de derivados de isoflavona conforme aqui descritos. Isoflavonas podem ser encontrados em inúmeras fontes, incluindo, mas, não limitados a, soja. Exemplos não limitantes de isoflavonas incluem daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A, formononetina, ou quaisquer metabólitos de isoflavonas. Isoflavonas e seu uso para vários benefícios para a saúde são conhecidos. Por exemplo, tem-se constatado que a soja reduz o risco de doença cardiovascular; reduz o risco de câncer no seio e na próstata; alivia ondas de calor associadas à deficiência de estrogênio na menopausa; retarda a osteoporose em mulheres na pós-menopausa; reduz a quantidade total de colesterol, de colesterol LDL e de triglicerídeos no plasma; preserva as funções cognitivas em mulheres na pós-menopausa; melhora os sintomas de hipertensão e promove a perda de peso.

O termo “L-carnitina” significa um derivado de trimetilamônio (betaína) de ácido γ -amino- β -hidróxi-butírico, formado a partir de N8,N8,N8-trimetil-lisina e a partir de γ -butiro-betaína. L-carnitina é um veículo de acila para a membrana mitocondrial, que estimula a oxidação de ácidos graxos. Algumas vezes se refere a ela como Vitamina Bt ou Vitamina B7.

O termo “castrado” significa um animal carecendo de ou tendo órgãos germinativos desenvolvidos de maneira imperfeita ou não funcionais, se tais condições ocorrem de maneira congênita, por métodos de desenvol-

vimento naturais ou através de intervenção cirúrgica.

O termo “administração oral” ou “administrado oralmente”, significa que um animal ingere de maneira oral um alimento ou outra composição.

5 O termo “alimento para pequenos animais” ou “composição de alimento para pequenos animais” significa uma composição que se pretenda para ingestão por um animal, e, de preferência, por animais de companhia.

O termo “embalagem única” significa que os componentes de um kit estão fisicamente associados em ou com um ou mais recipientes e são considerados uma unidade para fabricação, distribuição, venda ou uso.

10 Os recipientes incluem, mas, não estão limitados a, bolsas, caixas, garrafas, pacotes embalados por encolhimento, empilhados ou componentes afixados de outra maneira, ou suas combinações. Uma embalagem única pode ser recipientes de composições de alimento individuais fisicamente associados, de maneira tal que eles sejam considerados uma unidade para a fabricação,

15 distribuição, venda ou uso.

O termo “ooforectomia” significa a remoção dos ovários de uma fêmea animal.

O termo “pacote virtual” significa que os componentes de um kit estão associados por instruções sobre um ou mais componentes de kit físicos ou virtuais, instruindo o usuário como se obter os outros componentes,

20 por exemplo, em uma bolsa contendo um componente e instruções orientando o usuário a ir a um *website*, entrar em contato com uma mensagem gravada, visualizar uma mensagem visual ou entrar em contato com um cuidador ou instrutor para obter instruções sobre como usar o kit.

25 Todas as percentagens expressas aqui são por peso da composição em uma base de matéria seca, a menos se afirmado especificamente de outra maneira. O termo “base de matéria seca” significa que a concentração de um ingrediente em uma composição é medida depois que qualquer umidade na composição seja removida.

30 Conforme usado ao longo de todo este texto, faixas são usadas para descreverem todo e qualquer valor dentro da faixa. Qualquer valor apropriado dentro da faixa pode ser selecionado como o valor superior ou in-

ferior para a faixa.

A invenção não está limitada a metodologia, protocolos e reagentes em particular aqui descritos, porque eles podem variar. Além disso, a terminologia usada aqui é somente para a finalidade de descrever concretizações particulares e não se pretende limitar o escopo da presente invenção. Conforme usado aqui e nas reivindicações apensas, as formas no singular “um(a)” e “o(a)” incluem a referência aos plurais, a menos se o contexto claramente ditar de outra maneira. Similarmente, as palavras “compreendem”, “compreende” e “compreendendo” devem ser interpretadas inclusivamente ao invés de exclusivamente.

A menos se definido de outra maneira, todos os termos técnicos e científicos e quaisquer acrônimos usados aqui têm os mesmos significados como comumente entendidos por um versado na técnica, no campo da invenção. Embora quaisquer composições, métodos, artigos de manufatura ou outros meios ou materiais similares ou equivalentes àqueles aqui descritos, podem ser usados na prática da presente invenção, as composições, métodos, artigos de manufatura ou outros meios ou materiais preferidos são aqui descritos.

Todas as patentes, pedidos de patente, publicações e outras referências citadas ou a que se refere aqui são incorporadas aqui por referência na extensão permitida pela lei. Pretende-se que a discussão daquelas referências seja meramente para resumir as afirmações nelas feitas. Nenhuma admissão é feita no sentido de que tais patentes, pedidos de patente, publicações ou referências, ou quaisquer partes deles, é técnica anterior relevante para a presente invenção e o direito a desafiar a acurácia e a pertinência de tais patentes, pedidos de patente, publicações e outras referências é especificamente reservado.

A Invenção

Em um aspecto, a presente invenção fornece composições adequadas para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal. As composições compreendem uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo ou

para inibir a perda óssea em um animal. A invenção se baseia na constatação de que isoflavonas e vários de seus metabólitos são eficazes para a promoção de crescimento e desenvolvimento ósseos saudáveis e para a inibição da perda óssea em animais. A invenção é útil para a promoção do crescimento ósseo saudável em animais em crescimento, jovens, e para a redução da perda óssea em animais maduros. Constatou-se que as composições são particularmente eficazes para a indução de crescimento ósseo ou a inibição de perda óssea em um animal na pós-menopausa, na pós-andropausa, gonadectomizado, ooforectomizado ou castrado, especialmente quando o sistema esquelético do animal estiver ainda em crescimento ou amadurecendo.

As isoflavonas, ou seus metabólitos, podem estar presentes na composição como um ingrediente ou aditivo. Em uma concretização, as isoflavonas são isoflavonas de soja. Em outra, as isoflavonas são daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina, ou seus metabólitos. Em uma concretização preferida, o metabólito de isoflavona é di-hidrodaidzeína ou equol. Em uma concretização, as composições compreendem adicionalmente L-carnitina e/ou ácido linoléico conjugado.

Em uma concretização, as composições são composições de alimento para pequenos animais. Tais composições incluem alimentos pretendidos para fornecer as exigências alimentares necessárias para um animal, petiscos para animais (por exemplo, biscoitos), ou suplementos alimentares. As composições podem ser uma composição seca (por exemplo, moída), composição semi-úmida, composição úmida ou uma mistura destes. Em outra concretização, a composição é um suplemento alimentar, tal como uma pequenos pedaços, água de beber, bebida, iogurte, pó, grânulo, pasta, suspensão, chiclete, porção, petisco, aperitivo, pélete, pílula, cápsula, comprimido ou qualquer outra forma de entrega adequada. O suplemento alimentar pode compreender uma elevada concentração de isoflavonas ou seus metabólitos, tal que o suplemento possa ser administrado ao animal em

pequenas quantidades, ou, como alternativa, pode ser diluído antes da administração a um animal. O suplemento alimentar pode exigir a adição sob mistura com água antes da administração ao animal.

5 A composição pode ser refrigerada ou congelada. As isoflavonas, ou seus metabólitos, pode ser pré-misturada com os outros componentes da composição, para fornecer as quantidades benéficas necessárias, pode ser revestido por sobre uma composição de alimento para pequenos animais, ou pode ser adicionado à composição antes de oferecê-la ao animal, por exemplo, usando um pó aspergido ou uma mistura.

10 Em uma concretização, as composições da invenção compreendem isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo em um animal. Em outra, as composições compreendem isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para inibir a perda óssea em um animal. De preferência, nessas concretizações, a
 15 composição compreende desde cerca de 0,1% a cerca de 100% de isoflavonas, ou seus metabólitos, muitíssimo de preferência, de desde cerca de 0,1% a cerca de 50%. Para composições de alimento, a composição, de preferência, compreende desde 0,01% a cerca de 50%, de preferência, cerca de 0,1% a cerca de 30%. Em várias concretizações, a composição compreende
 20 cerca de 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5%; 4,0%; 4,5%; 5,0%; 5,5%; 6,0%; 6,5%; 7,0%; 7,5%; 8,0%; 8,5%; 9,0%; 9,5%; 10,0%; 10,5%; 11,0%; 11,5%; 12,0%; 12,5%; 13,0%; 13,5%; 14,0%; 14,5%; 15,0%; 15,5%; 16,0%; 16,5%; 17,0%; 17,5%; 18,0%; 18,5%; 19,0%; 19,5%; 20,0%; 20,5%; 21,0%; 21,5%; 22,0%; 22,5%; 23,0%; 23,5%; 24,0%; 24,5%; 25,0%; 25,5%;
 25 26,0%; 26,5%; 27,0%; 27,5%; 28,0%; 28,5%; 29,0%; 29,5%; 30%; 40%; 50%; ou mais da composição. Por exemplo, suplementos alimentares podem ser formulados para conterem concentrações várias vezes ou ainda maiores de isoflavonas, ou de seus metabólitos, do que composições típicas, tal que os suplementos sejam convenientes para a administração a um animal na
 30 forma de um comprimido, cápsula, concentrado líquido ou outra forma de dosagem similar, ou serem diluídos antes das administrações, tal como por diluição em água, atomização ou aspersão por sobre um alimento para pe-

quenos animais, e outros modos de administração similares. Tais suplementos podem compreender 100% de isoflavonas, ou seus metabólitos, mas, freqüentemente, eles são formulados com veículos, excipientes e os similares.

5 As fontes de cada uma das isoflavonas, ou seus metabólitos, pode ser qualquer fonte adequada, sintética ou natural. Fontes preferidas de isoflavonas incluem qualquer planta, material de planta ou extrato de planta, contendo isoflavonas, tais como, mas, não limitados a, legumes, trevos ou raiz de kudzu. Fontes preferidas de isoflavonas de legumes incluem grãos
10 de ervilha, lentilhas, feijões de soja ou qualquer outro tipo de feijões ou ervilhas, que contenham isoflavonas. Farinha de feijão de soja, farinha de germe de soja e os similares também podem ser usados. Fontes preferidas de isoflavonas de trevos incluem trevo vermelho e trevo subterrâneo. Alternativamente, as isoflavonas, ou seus metabólitos, podem ser sintetizados *de novo*
15 de acordo com qualquer meio adequado na técnica.

 L-carnitina é um composto que ocorre naturalmente, que desempenha um papel importante na produção de energia no corpo de um animal. Concentrações mais elevadas de L-carnitina são encontradas em tecidos que usem ácido graxo como sua fonte primária de energia, tal como
20 esqueleto e músculo cardíaco, comparado a outros tecidos. L-carnitina pode estimular a diferenciação de osteoblastos e pode desempenhar um papel na supressão da perda óssea. A fonte para L-carnitina pode ser qualquer tecido animal, incluindo tecido isolado a partir de mamíferos, peixe, pássaros e os similares. Similarmente, L-carnitina pode ser obtida a partir de leite isolado a
25 partir de qualquer mamífero. Alternativamente, L-carnitina pode ser sintetizada *de novo* de acordo com qualquer meio adequado na técnica.

 CLA desempenha um papel na remodelagem e no crescimento de ossos. Em adição, mostrou-se que CLA beneficia BMD em mulheres na pós-menopausa. A fonte para CLA pode ser qualquer tecido animal, incluindo
30 tecido isolado a partir de mamíferos, pássaros, peixes e os similares. Similarmente, CLA pode ser obtido a partir de leite isolado a partir de qualquer mamífero. CLA também pode ser obtido a partir de plantas ou óleos de plan-

tas, tal como óleo de girassol. Alternativamente, CLA pode ser sintetizado *de novo* de acordo com qualquer meio adequado na técnica. CLA também pode ser derivado a partir de isômeros sintéticos ou de análogos sintéticos de CLA. As composições podem compreender adicionalmente agentes que afetem os ossos em quantidades eficazes para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal, isoladamente ou em combinação com as isoflavonas, ou seus metabólitos, da presente invenção.

Em várias concretizações, o animal é um ser humano ou animal de companhia, tal como um animal na pós-menopausa, na pós-andropausa, gonadectomizados, ooforectomizados ou castrados. Em outras, o animal é um animal jovem ou em crescimento, no qual o desenvolvimento ósseo está ocorrendo.

As composições podem compreender opcionalmente substâncias suplementares, tais como minerais, vitaminas, sais, condimentos, corantes e conservantes. Exemplos não limitantes de minerais suplementares incluem cálcio, fósforo, potássio, sódio, ferro, cloreto, boro, cobre, zinco, manganês, iodo, selênio e os similares. Exemplos não limitantes de vitaminas suplementares incluem Vitamina A, várias Vitaminas B, Vitamina C, Vitamina D, Vitamina E e Vitamina K. Suplementos alimentares adicionais também podem ser incluídos, por exemplo, niacina, ácido pantotênico, inulina, ácido fólico, biotina, aminoácidos e os similares.

Opcionalmente, as composições podem compreender uma ou mais substâncias suplementares, que promovam ou mantenham o crescimento ósseo saudável geral, ou que inibam a perda óssea. Tais substâncias incluem, sem limitação, DT56a, androstenediona, deidroepiandrosterona (DHEA), silício, CLA e ácido orto-silícico.

Em várias concretizações, composições de alimento para pequenos animais ou composições de refeição para pequenos animais compreendem de desde cerca de 15% a cerca de 50% de proteína bruta. O material de proteína bruta pode compreender proteínas vegetais, tais como farinha de feijão de soja, concentrado de proteína de soja, farinha de glúten de milho, glúten de trigo, semente de algodão e farinha de amendoim, ou prote-

ínas animais, tais como caseína, albumina e proteína de carne. Exemplos não limitantes de proteína de carne úteis aqui incluem porco, cordeiro, equina, aves, peixe e suas misturas.

5 As composições podem compreender adicionalmente desde cerca de 5% a cerca de 40% de gordura. As composições podem compreender adicionalmente uma fonte de carboidrato. As composições podem compreender de desde cerca de 15% a cerca de 60% de carboidratos. Exemplos não limitantes de tais carboidratos incluem grãos e cereais, tais como arroz, milho, milo, sorgo, alfafa, cevada, sojas, canola, aveias, trigo e
10 suas misturas. As composições também podem compreender opcionalmente outros materiais, tais como soro de leite seco e outros produtos de laticínio.

As composições também podem compreender pelo menos uma fonte de fibras. Uma variedade de fibras solúveis ou insolúveis pode ser utilizada, conforme serão conhecidas pelos versados na técnica. A fonte de fi-
15 bras pode ser polpa de beterraba (a partir de açúcar de beterraba), goma arábica, goma talha, psílio, farelo de arroz, goma de feijão de caroba, polpa de citrus, pectina, fruto-oligossacarídeo adicional à oligofrutose de cadeia curta, manano-oligofrutose, fibra de soja, arabino-galactano, galacto-oligossacarídeo, arabinoxilano ou misturas destes. Alternativamente, a fonte
20 de fibras pode ser uma fibra fermentável. Fibra fermentável foi previamente descrita fornecer um benefício ao sistema imune de um animal de companhia. Fibra fermentável ou outras composições, conhecidas pelo técnico especializado no assunto, fornecem uma composição prebiótica para intensificar o crescimento de microorganismos prebióticos, dentro do intestino, tam-
25 bém podem ser incorporados à composição, para auxiliar na intensificação do benefício fornecido pela presente invenção ao sistema imune de um animal. Adicionalmente, microorganismos prebióticos, tais como espécies de *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ou *Saccharomyces*, por exemplo, podem ser adicionados à composição.

30 Em uma concretização preferida, a composição é um alimento para pequenos animais completo e nutricionalmente balanceado. Nessa concretização, o alimento para pequenos animais pode ser um alimento ú-

mido, um alimento seco ou um alimento de teor de umidade intermediário, como seria reconhecido pelo técnico especializado no assunto de fabricação e formulação de alimento para pequenos animais. "Alimento úmido" descreve um alimento para pequenos animais que é tipicamente vendido em latas ou bolsas de plástico, e que tem um teor de mistura tipicamente na faixa de cerca de 70% a cerca de 90%. "Alimento seco" descreve alimento para pequenos animais que é de uma composição similar ao alimento úmido, mas, que contém um teor de umidade limitado, tipicamente na faixa de cerca de 5% a cerca de 15%, e, portanto, é apresentado, por exemplo, moídos semelhantes a pequenos biscoitos. As composições e suplementos alimentares podem ser formulados de maneira especial para animais adultos, ou para animais idosos ou jovens, por exemplo, "comida para filhotes", "comida para gatinhos" ou formulações "senior". Em geral, formulações especializadas compreenderam exigências energéticas e nutricionais apropriadas para animais em diferentes estágios de desenvolvimento ou idade.

Certos aspectos da invenção são usados, de preferência, em combinação com um alimento completo e balanceado. Isto é, composições compreendendo isoflavonas, ou seus metabólitos, de acordo com certas concretizações da invenção, são usados, de preferência, com um alimento comercial de alta qualidade. Conforme usado aqui, "alimento comercial de alta qualidade" se refere a uma dieta fabricada para produzir a digestibilidade dos nutrientes-chave de 80% ou mais, conforme estipulado, por exemplo, nas recomendações do *National Research Council* acima para cães, ou nas diretrizes estipuladas pela *Association of American Feed Control Officials*. Padrões para nutrientes elevados similares seriam usados para outros animais.

O técnico especializado no assunto entenderá como determinar a quantidade apropriada de isoflavonas, ou de seus metabólitos, a serem adicionadas a uma dada composição. Tais fatores, que podem ser levados em conta, incluem o tipo de composição (por exemplo, composição de alimento para pequenos animais versus suplemento alimentar), o consumo médio de tipos específicos de composições por diferentes animais e as con-

dições de fabricação sob as quais a composição é preparada. De preferência, as concentrações de isoflavonas, ou de seus metabólitos, a serem adicionadas à composição são calculadas com base nas exigências energéticas e nutricionais do animal. De acordo com certos aspectos da invenção, as isoflavonas, ou seus metabólitos, podem ser adicionadas em qualquer momento durante a fabricação e/ou processamento da composição. Isso inclui, sem limitação, como parte da formulação da composição de alimento para pequenos animais ou suplemento alimentar, ou como um revestimento aplicado à composição de alimento para pequenos animais ou ao suplemento alimentar. As composições podem ser feitas de acordo com qualquer processo adequado na técnica.

Em outro aspecto, a presente invenção fornece métodos para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição da perda óssea em um animal. Os métodos compreendem a administração a um animal de uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea no animal. Em várias concretizações, as isoflavonas são daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina, ou metabólitos destes. Em uma concretização, os metabólitos de isoflavona são di-hidrodaidzeína ou equol. Em uma concretização, as composições compreendem adicionalmente L-carnitina e/ou ácido linoléico conjugado.

Em várias concretizações, a composição é uma composição de alimento para seres humanos, composição de alimento para pequenos animais ou um suplemento alimentar conforme descrito aqui. Em várias concretizações, as isoflavonas são daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina, ou metabólitos destes. Em uma concretização, o metabólito de isoflavona é di-hidrodaidzeína ou equol. Em uma concretização, os métodos compreendem adicionalmente a administração de L-carnitina e/ou ácido linoléico.

conjugado em combinação com as isoflavonas ou seus metabólitos. Em outra, os métodos compreendem adicionalmente a administração de isoflavonas, ou seus metabólitos, em conjunção com agentes que afetem os ossos em quantidades eficazes para a indução do crescimento ósseo ou para a
5 inibição da perda óssea em um animal.

Em várias concretizações, o animal é um ser humano ou animal de companhia, tal como um cão ou um gato. Em certas concretizações, o animal é um animal que está na pós-menopausa, na pós-andropausa, ou que seja gonadectomizado. Em outras, o animal é um animal jovem ou em
10 crescimento.

As isoflavonas, ou seus metabólitos, são administrados ao animal usando uma variedade de rotas de administração. Tais rotas incluem, sem limitação, oral, intranasal, intravenosa, intramuscular, intragástrica, transpilórica, subcutânea, retal e as similares. De preferência, as composi-
15 ções são administradas oralmente.

A administração pode ser baseada na necessidade ou na vontade, por exemplo, uma vez ao mês, uma vez por semana, diariamente ou mais do que diariamente. Similarmente, a administração pode ser dia sim, dia não, semanal ou mensal, e as similares. A administração pode ser mais
20 de uma vez ao dia. Quando utilizada como um suplemento às exigências dietéticas ordinárias, a composição pode ser administrada diretamente ao animal ou, de outra maneira, colocada em contato com ou adicionada sob mistura com a ração ou alimentação diárias. Quando utilizada como uma ração ou alimentação diária, a administração será bem- conhecida pelos
25 técnicos especializados no assunto.

A administração também pode ser realizada como parte de um regime alimentar para o animal. Por exemplo, um regime alimentar pode compreender se provocar a ingestão regular pelo animal de uma composição compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólicos, em uma
30 quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo no animal, ou em uma quantidade eficaz para inibir a perda óssea no animal. A ingestão regular pode ser uma vez ao dia, ou duas, três, quatro ou mais vezes ao dia, em

uma base diária. O objetivo de ingestão regular é fornecer ao animal a dose diária preferida de isoflavonas, ou seus metabólitos, como exemplificado aqui.

Faixas de doses diárias preferidas, para isoflavonas e/ou seus metabólitos, variam desde cerca de 5 mg/dia a cerca de 5.000 mg/dia por animal. De preferência, a dose diária de isoflavonas e/ou de seus metabólitos varia desde cerca de 30 mg/dia a cerca de 500 mg/dia por animal, e, mais preferivelmente, desde cerca de 80 mg/dia a cerca de 300 mg/dia por animal. A dose diária de isoflavonas, ou seus metabólitos, pode ser medida em termos de gramas de isoflavonas, ou de seus metabólitos, por Kg de BW do animal. A dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, pode variar de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 50 g/Kg de BW do animal, embora doses maiores ou menores possam ser fornecidas. De preferência, a dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 25 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 10 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 5 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, é de desde 0,001 g/Kg a cerca de 1 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de isoflavonas, ou de seus metabólitos, é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 0,15 g/Kg de BW do animal.

Faixas de doses diárias preferidas para L-carnitina variam desde cerca de 50 mg/Kg a cerca de 5.000 mg/Kg por animal. De preferência, a dose diária de L-carnitina varia de desde cerca de 80 mg/dia a cerca de 500 mg/dia por animal, e mais preferivelmente de desde cerca de 100 mg/dia a cerca de 300 mg/dia por animal. A dose diária de L-carnitina pode ser medida em termos de gramas de L-carnitina por Kg de BW do animal. A dose diária de L-carnitina pode variar de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 50 g/Kg de BW do animal, embora doses maiores ou menores possam ser fornecidas. De preferência, a dose diária de L-carnitina é de desde cerca 0,001

g/Kg a cerca de 25 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de L-carnitina é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 10 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de L-carnitina é de desde cerca de 0,001 g/kg a cerca de 5 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de L-carnitina é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 1 g/Kg de BW do animal. Faixas de doses diárias preferidas para CLA variam de desde cerca de 50 mg/dia a cerca de 10.000 mg/dia por animal. De preferência, a dose diária de CLA varia de desde cerca de 500 mg/dia a cerca de 6.000 mg/dia por animal, e, mais preferivelmente, de desde cerca de 1.000 mg/dia a cerca de 4.000 mg/dia por animal.

A dose diária de CLA pode ser medida em termos de gramas de CLA por Kg de BW do animal. A dose diária de CLA pode variar de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 50 g/Kg de BW do animal, embora doses maiores ou menores possam ser fornecidas. De preferência, a dose diária de CLA é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 25 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de CLA é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 10 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de CLA é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 5 g/Kg de BW do animal. Mais preferivelmente, a dose diária de CLA é de desde cerca de 0,001 g/Kg a cerca de 1 g/Kg de BW do animal.

Quando da formulação das composições da presente invenção, um técnico especializado no assunto pode determinar as quantidades das isoflavonas, ou seus metabólitos, e outros compostos ou ingredientes, com base nas dosagens acima e nas características do animal, por exemplo, a espécie, idade, tamanho, peso, saúde do animal, e as similares.

De acordo com os métodos da invenção, a administração das isoflavonas, ou seus metabólitos, incluindo a administração como parte de um regime de dieta, pode tomar um período de tempo variando desde o parto até a vida adulta do animal.

Em um aspecto adicional, a presente invenção fornece kits adequados para a administração de uma composição compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal. Os kits compreendem

recipientes separados em um único pacote ou em recipientes separados em um pacote virtual, conforme apropriado para o componente do kit, uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, e pelo menos um de (1) um ou mais ingredientes adequados para o consumo por um animal, (2) um ou mais agentes que afetem os ossos adequados para a indução de crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea, (3) instruções para como combinar as isoflavonas, ou seus metabólitos, com outros componentes do kit, particularmente, para produzir uma composição de alimento útil para a administração de isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal, e (4) instruções para como usar as isoflavonas, ou seus metabólitos, e outros componentes da presente invenção, particularmente para o benefício do animal por indução de crescimento ósseo ou por inibição de perda óssea no animal.

Quando o kit compreender um pacote virtual, o kit é limitado às instruções em um ambiente virtual, em combinação com um ou mais componentes de kit físicos. O kit contém as isoflavonas, ou seus metabólitos, e outros componentes em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea no animal. Tipicamente, as isoflavonas, ou seus metabólitos, e os outros componentes de kit adequados (por exemplo, composições de alimento) são adicionados sob mistura logo antes do consumo por um animal. Os kits podem conter os componentes de kit em qualquer de várias combinações e/ou misturas. Em uma concretização, o kit contém um pacote contendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, e um recipiente de alimento para consumo por um animal. O kit pode conter itens adicionais, tal como um dispositivo para mistura das isoflavonas, ou seus metabólitos, e ingredientes ou um dispositivo para conter a mistura, por exemplo, uma cuia para alimento. Em outra concretização, as isoflavonas, ou seus metabólitos, são misturados com suplementos nutricionais adicionais, tais como vitaminas e minerais, que promovam boa saúde em um animal.

As instruções podem orientar e/ou informar um consumidor, médico, proprietário de pequeno animal, veterinário, fornecedor de alimento, e os similares, as isoflavonas, ou seus metabólitos, podem ser usadas para

induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal. As instruções também podem orientar o usuário em como aplicar ou adicionar sob mistura as isoflavonas, ou seus metabólitos, ao alimento ou à água de um animal.

- 5 Em outro aspecto, a presente invenção fornece um meio para comunicar informação sobre ou instruções para um ou mais de (1) uso das isoflavonas, ou seus metabólitos, para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal, (2) adição sob mistura das isoflavonas, ou seus metabólitos, aos outros componentes (composições de alimentos)
- 10 da presente invenção, (3) administração das isoflavonas, ou de seus metabólitos, a um animal, isoladamente ou em combinação com os outros elementos da presente invenção, e (4) uso dos kits da presente invenção para administrar isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal, particularmente, para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal.
- 15 O meio compreende um documento, meios de armazenamento digital, meios de armazenamento óptico, apresentação por áudio ou exibição visual contendo as informações ou instruções. Em certas concretizações, o meio de comunicação é um *website* exibido, quiosque de exibição visual, brochura, rótulo de produto, inserção de embalagem, anúncio, nota para imprensa,
- 20 anúncio público, fita de áudio, DVD, CD-ROM, *chip* legível por computador, cartão legível por computador, disco legível por computador, memória de computador, os combinações destes, contendo tais informações ou instruções. Informações úteis incluem um ou mais de (1) métodos e técnicas para combinar e administrar as isoflavonas, ou seus metabólitos e/ou outros com-
- 25 ponentes e (2) colocação em contato de informações para animais ou seus cuidadores, para usá-las, se eles tiverem uma questão sobre a invenção e seu uso. Instruções úteis incluem quantidades para mistura e quantidades e frequências de administração. Os meios de comunicação são úteis para instruir sobre os benefícios em se usar a presente invenção e para comunicar
- 30 os métodos aprovados para a administração da invenção a um animal.

Em outro aspecto, a presente invenção fornece um método para a preparação de uma composição de alimento contendo isoflavonas, ou

seus metabólitos, compreendendo adição sob mistura de um ou mais ingredientes adequados para o consumo por um animal e isoflavonas, ou seu metabólitos, ou aplicação de isoflavonas, ou seus metabólitos, por sobre a composição de alimento. Em um aspecto adicional, a presente invenção fornece as composições de alimento preparadas usando-se esse método.

Em um aspecto adicional, a presente invenção propicia um uso de isoflavonas, ou seus metabólitos, para preparar um medicamento. Em outro, a invenção propicia a aplicação de tais isoflavonas, ou seus metabólitos, para preparar um medicamento para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal. Em geral, medicamentos são preparados por adição sob mistura de um composto ou composição com excipientes, tampões, aglutinantes, plasticizantes, corantes, diluentes, agentes de compressão, lubrificantes, flavorizantes, agentes de umectação, e outros ingredientes conhecidos pelos técnicos especializados no assunto, a serem úteis para a produção de medicamentos e para a formulação de medicamentos, que sejam adequados para a administração a um animal.

Exemplos

A invenção pode ser adicionalmente ilustrada pelos seguintes exemplos, contudo, será entendido que estes exemplos são incluídos meramente para finalidades de ilustração e não se pretende que eles limitem o escopo da invenção, a menos se indicado especificamente de outra maneira.

Exemplo 1

Efeito de Isoflavonas de Soja Alimentares sobre o Crescimento Ósseo em Cães Gonadectomizados Normais

Cães e Dietas: trinta Labradores *Retriever*, não obesos, recém-gonadectomizados, de 4 - 5 meses de idade, foram usados no estudo. Os filhotes foram distribuídos aleatoriamente em três grupos, com base em ninhada para minimizar a influência genética sobre o crescimento de músculos esqueléticos e sobre a saúde: o Grupo 1 consistia em dez Labradores *Retriever* machos e fêmeas recém-gonadectomizados, que foram alimentados com uma dieta para filhotes bem-balanceada compreendendo 29 a 30% de proteína e 20% de gordura (a dieta de controle). O Grupo 2 consistia em dez

Labradores *Retriever* machos e fêmeas recém-gonadectomizados, que foram alimentados com a dieta de controle suplementada com 10% de farinha de germe de soja (SGM). O grupo 3 consistia em dez Labradores *Retriever* machos e fêmeas recém-gonadectomizados, que foram alimentados com a
5 dieta de controle suplementada com 10% de SGM, 100 ppm de L-carnitina e 1,5% de CLA. SGM contém as seguintes isoflavonas de soja: 17% de genisteína, 52% de daidzeína e 31% de gliciteína. Todos os filhotes foram alimentados para manter sua classificação de condição corporal ideal, 5, por ajuste de suas ingestões de alimentos. A duração do estudo foi de 70 semanas.

10 Todos os cães deu-se uma determinação de MER de pré-estudo. Antes do estudo, e a cada semana depois que o estudo começou até a conclusão do estudo, a medição de BW foi feita para cada animal. Antes do estudo, e bimensalmente depois que o estudo começou até a conclusão do estudo, as seguintes medições foram feitas para cada animal: DEXA
15 para a gordura corporal, massa de corpo magro, química óssea, perfil de tireóide expandido, contagem sanguínea completa, BMC, teor mineral ósseo de espinha lombar, e densidade mineral óssea de espinha lombar.

Depois de 70 semanas de estudo de crescimento, nenhuma diferença em BW, massa de corpo magro ou gordura corporal foi observada entre os três grupos. Todos os parâmetros medidos na química do sangue, no
20 perfil de tireóide expandido e na contagem de sangue completa também foram determinados como estando dentro da faixa normal. Os resultados relativos ao crescimento do esqueleto são mostrados nas Tabela 1 - 4. BMC e BMD foram avaliados nas vértebras lombares 1 - 7 de cada filhote, em cada
25 grupo experimental.

Os resultados são mostrados nas Tabelas 1 até 4. De maneira geral, as Tabelas mostram os efeitos de isoflavonas sobre BMC e BMD. Os filhotes foram alimentados com uma dieta de controle (Ração 1), com 29 a 30% de proteína e 20% de gordura, uma dieta de isoflavona (Ração 2) (dieta
30 de controle suplementada com 10% de SGM), ou uma dieta coquetel (Ração 3) (dieta de controle suplementada com 10% de SGM, 100 ppm de L-carnitina e 1,5% de CLA). Nas Tabelas, Ração 1 = controle, Ração 2 = iso-

flavonas, Ração 3 = isoflavonas, CLA e L-carnitina.

Fazendo-se referência às tabelas, a tabela 1 mostra os efeitos de isoflavonas de soja alimentares sobre BMC de vértebras lombares 1 - 4 em filhotes machos e fêmeas em crescimento gonadectomizados (4 meses de idade) durante um estudo de crescimento de 70 semanas. Os filhotes foram alimentados para manter sua classificação de condição corporal ideal de 5, por ajuste de suas ingestões de alimentos. Com referência aos resultados, o BMC aumentou nos cães de controle durante o estudo de 70 semanas, mas, constatou-se que o BMC em filhotes consumindo a dieta com isoflavona ou a dieta coquetel contendo isoflavona era maior do que o BMC em filhotes consumindo a dieta de controle em quase todos tempos testados e no final do estudo. Esses dados indicam claramente que as dietas para filhotes de alta qualidade, bem-balanceadas, existentes falharam em promover um aumento ótimo em BMC em filhotes machos e fêmeas em crescimento, gonadectomizados.

A tabela 2 mostra mudanças em BMD das vértebras lombares 1 - 4 nos filhotes machos e fêmeas em crescimento, gonadectomizados (4 meses de idade) durante o estudo de crescimento de 70 semanas. Com referência aos resultados, a BMD das vértebras lombares 1 - 4 aumentou nos cães de controle durante o curso do estudo de 70 semanas, mas, constatou-se que cães consumindo a dieta com isoflavona ou a dieta coquetel contendo isoflavona tiveram uma BMD maior do que os cães de controle. Esses dados mostram que as dietas para filhotes de alta qualidade, bem-balanceadas, existentes falharam em promover um aumento ótimo em BMD em filhotes machos e fêmeas em crescimento, gonadectomizados.

A tabela 3 mostra os efeitos de isoflavonas de soja alimentares sobre o BMC de vértebras lombares 4 - 7 em filhotes machos e fêmeas em crescimento, gonadectomizados (4 meses de idade) durante o estudo de crescimento de 70 semanas. Com referência aos resultados, o BMC aumentou nos cães de controle durante o estudo de 70 semanas, mas, constatou-se que o BMC em filhotes consumindo a dieta com isoflavona ou a dieta coquetel contendo isoflavona era maior do que o BMC em filhotes consumindo

a dieta de controle no final do estudo. De maneira notável, ao contrário dos resultados observados nas vértebras lombares 1 - 4, onde o BMC, em geral, foi o mesmo entre cães alimentados com as dietas coquetel e com isoflavona, os resultados observados nas vértebras lombares 4 - 7 indicam que, no todo, cães alimentados com a dieta coquetel tiveram um BMC maior do que o de cães alimentados com a dieta com isoflavona.

A tabela 4 mostra mudanças na BMD de vértebras lombares 4 - 7 nos filhotes machos e fêmeas em crescimento gonadectomizados (4 meses de idade) durante o estudo de crescimento de 70 semanas. Com referência aos resultados, a BMD de vértebras lombares 4 - 7 aumentou nos cães de controle durante o curso do estudo de 70 semanas, mas, cães consumindo a dieta com isoflavona ou a dieta coquetel contendo isoflavona tiveram uma BMD maior do que os cães de controle no final do estudo, quando o sistema esquelético dos cães alcançou a maturidade. Esses dados mostram que as dietas para filhotes de alta qualidade, bem-balanceadas, existentes não poderiam compensar a perda de efeitos promotores de crescimento de estrogênio, que foi perdido depois de gonadectomia. Conforme mostram os resultados, os filhotes de controle alcançaram os BMC e BMD de pico ótimos, quando seus sistemas esqueléticos alcançou a maturidade. De maneira inversa, as isoflavonas e o coquetel contendo isoflavona são eficazes na promoção de melhor crescimento ósseo (BMC e BMD maiores) em filhotes em crescimento gonadectomizados.

Tabela: 1

	Semanas	Ração1	SE 1	Ração 2	SE 2	Ração 3	SE 3
L1-L4 BMC	16	13.2741	1.1223	12.6152	1.1223	12.8699	1.0874
L1-L4 BMC	26	19.0018	1.0715	18.9969	1.0717	20.2617	1.0348
L1-L4 BMC	34	22.1142	1.0637	22.6728	1.0637	23.7819	1.0378
L1-L4 BMC	42	24.2471	1.0434	25.2927	1.0435	25.7862	1.0244
L1-L4 BMC	50	25.7025	1.054	27.0549	1.0545	26.8387	1.0396
L1-L4 BMC	58	26.7823	1.0708	28.1578	1.0717	27.5036	1.0601
L1-L4 BMC	66	27.7883	1.0656	28.7997	1.0658	28.3452	1.0574
L1-L4 BMC	70	28.3579	1.1022	29.0097	1.1022	29.0085	1.0956

Tabela 2

	Semanas	Ração1	SE 1	Ração 2	SE 2	Ração 3	SE 3
L1-L4 BMD	16	0.7067	0.02817	0.7049	0.02817	0.7341	0.02722
L1-L4 BMD	26	0.826	0.02715	0.836	0.02715	0.8561	0.02616
L1-L4 BMD	34	0.8847	0.02699	0.9072	0.02699	0.9107	0.02624
L1-L4 BMD	42	0.92	0.02659	0.9543	0.02659	0.9399	0.02599
L1-L4 BMD	50	0.9404	0.0268	0.9831	0.0268	0.9555	0.02631
L1-L4 BMD	58	0.9542	0.9542	0.02714	0.02714	0.9695	0.02675
L1-L4 BMD	66	0.9699	0.9699	0.02703	0.02703	0.9938	0.02673
L1-L4 BMD	70	0.9811	0.9811	0.02776	0.02776	1.0135	0.0275

Tabela 3

	Semanas	Ração1	SE 1	Ração 2	SE 2	Ração 3	SE 3
L4-L7 BMC	16	14.4363	1.1379	13.5979	1.1379	14.426	1.1001
L4-L7 BMC	26	20.7348	1.0949	20.6968	1.0949	22.369	1.0554
L4-L7 BMC	34	24.4373	1.0883	24.7872	1.0883	26.4567	1.0585
L4-L7 BMC	42	27.1118	1.0711	27.693	1.0711	29.0178	1.0476
L4-L7 BMC	50	28.9061	1.08	29.6245	1.08	30.5032	1.061
L4-L7 BMC	58	29.9677	1.0944	30.7917	1.0944	31.3636	1.0793
L4-L7 BMC	66	30.4443	1.0899	31.405	1.0899	32.0497	1.0782
L4-L7 BMC	70	30.5093	1.1208	31.5695	1.1208	32.4683	1.111

Tabela 4

	Semanas	Ração1	SE 1	Ração 2	SE 2	Ração 3	SE 3
L4-L7 BMD	16	0.6846	0.02579	0.6652	0.02579	0.7117	0.02496
L4-L7 BMD	26	0.799	0.02473	0.8009	0.02473	0.827	0.02385
L4-L7 BMD	34	0.856	0.02456	0.8643	0.02456	0.8821	0.02392
L4-L7 BMD	42	0.8904	0.02414	0.9003	0.02414	0.9145	0.02365
L4-L7 BMD	50	0.9099	0.02436	0.9208	0.02436	0.9335	0.02397
L4-L7 BMD	58	0.9221	0.02471	0.9376	0.02471	0.9488	0.02441
L4-L7 BMD	66	0.9347	0.0246	0.9626	0.0246	0.9697	0.02437
L4-L7 BMD	70	0.9434	0.02537	0.9818	0.02537	0.9852	0.02518

- No relatório descritivo, foram descritas concretizações preferidas típicas da invenção e, embora termos específicos sejam empregados, eles são usados somente em um sentido genérico e descritivo e não para finalidades de limitação, o escopo da invenção sendo estabelecido nas reivindicações. Obviamente, muitas modificações e variações da invenção são possíveis à luz dos ensinamentos acima. Portanto, deve ser entendido que, dentro do escopo das reivindicações apenas, a invenção pode ser praticada de maneiras diferentes do que aquelas especificamente descritas.
- 5

REIVINDICAÇÕES

1. Composição compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal.
- 5 2. Composição de acordo com a reivindicação 1, na qual a composição é uma composição de alimento para seres humanos, uma composição de alimento para pequenos animais ou um suplemento alimentar.
3. Composição de alimento de acordo com a reivindicação 2, na qual a composição de alimento compreende desde cerca de 0,1% a cerca de
10 50% de isoflavonas ou seus metabólitos.
4. Composição de acordo com a reivindicação 1, na qual as isoflavonas incluem pelo menos uma de daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina.
15
5. Composição de acordo com a reivindicação 1, na qual as isoflavonas, ou seus metabólitos, são isoflavonas de soja ou seus metabólitos.
6. Composição de acordo com a reivindicação 5, na qual o metabólito de isoflavona de soja é equol.
- 20 7. Composição de acordo com a reivindicação 1, na qual o animal é um cão ou gato.
8. Composição de acordo com a reivindicação 1, na qual o animal é um animal que está na pós-menopausa, que está na pós-andropausa, que é gonadectomizado, ooforectomizado ou castrado.
- 25 9. Composição de acordo com a reivindicação 1, compreendendo adicionalmente pelo menos um de DT56a, androstenediona, deidroepiandrosterona (DHEA), silício, L-carnitina, ácido linoléico conjugado e ácido orto-silícico.
- 10 30 10. Método para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal, compreendendo a administração ao animal de uma composição compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, em uma quantidade eficaz para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea no animal.

11. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual a composição de alimento para ser humano, a composição de alimento para pequenos animais ou um suplemento alimentar.

5 12. Método de acordo com a reivindicação 11, no qual a composição de alimento compreende desde cerca de 0,1% a cerca de 50% de isoflavonas ou seus metabólitos.

10 13. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual as isoflavonas incluem pelo menos uma de daidzeína, 6-O-malonil daidzeína, 6-O-acetil daidzeína, genisteína, 6-O-malonil genisteína, 6-O-acetil genisteína, gliciteína, 6-O-malonil gliciteína, 6-O-acetil gliciteína, biocanina A ou formononetina.

14. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual as isoflavonas são isoflavonas de soja ou seus metabólitos.

15 15. Método de acordo com a reivindicação 14, no qual o metabólito de isoflavona de soja é equol.

16. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual o animal é um animal que está na pós-menopausa, que está na pós-andropausa, que é gonadectomizado, ooforectomizado ou castrado.

20 17. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual a composição é administrada ao animal em uma base diária.

18. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual a composição compreende adicionalmente pelo menos um de DT56a, androstenediona, deidroepiandrosterona (DHEA), silício, L-carnitina, ácido linoléico conjugado e ácido orto-silícico.

25 19. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual as isoflavonas, ou seus metabólitos, são administrados em conjunção com um ou mais agentes que afetem os ossos.

20. Método de acordo com a reivindicação 10, no qual o animal é um cão ou gato.

30 21. Kit adequado para a administração de uma composição compreendendo uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal, compreendendo, em recipientes separados em uma única embalagem ou

em recipientes separados em uma embalagem virtual, conforme apropriado para o componente do kit, uma ou mais isoflavonas, ou seus metabólitos, e pelo menos um de (1) um ou mais ingredientes adequados para o consumo pelo animal, (2) um ou mais agentes que afetem os ossos adequados para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea, (3) instruções para como combinar as isoflavonas, ou seus metabólitos, e (4) instruções para como usar as isoflavonas, ou seus metabólitos, e outros componentes da presente invenção.

22. Meio para comunicar informações sobre ou instruções para um ou mais de (1) uso das isoflavonas, ou seus metabólitos, para induzir o crescimento ósseo ou para inibir a perda óssea em um animal, (2) adição sob mistura das isoflavonas, ou seus metabólitos, com os outros componentes da presente invenção, (3) administração das isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal, isoladamente ou em combinação com os outros elementos da presente invenção, e (4) uso dos kits da presente invenção para administrar isoflavonas, ou seus metabólitos, a um animal, compreendendo um documento, um meio de armazenamento digital, um meio de armazenamento óptico, uma apresentação de áudio ou exibição visual contendo as informações ou as instruções.

23. Meio de acordo com a reivindicação 21, selecionado a partir do grupo consistindo em *website* exibido, quiosque de exibição visual, brochura, rótulo de produto, inserção de embalagem, anúncio, nota para imprensa, anúncio público, fita de áudio, DVD, CD-ROM, *chip* legível por computador, cartão legível por computador, disco legível por computador, memória de computador, os combinações destes.

24. Método para a preparação de uma composição de alimento contendo isoflavonas, ou seus metabólitos, compreendendo a adição sob mistura de um ou mais ingredientes adequados para o consumo por um animal e isoflavonas, ou seus metabólitos, ou a aplicação de isoflavonas, ou seus metabólitos, por sobre a composição de alimento.

25. Uso de isoflavonas, ou de seus metabólitos, para preparar um medicamento para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição de perda óssea em um animal.

PI 0703361-0

PCT/US2007/004447

RESUMO

Patente de Invenção: **"COMPOSIÇÕES E MÉTODOS PARA A INDUÇÃO DE CRESCIMENTO ÓSSEO E PARA A INIBIÇÃO DE PERDA ÓSSEA".**

A presente invenção refere-se a composições úteis para a indução de crescimento ósseo ou para a inibição da perda óssea em um animal, compreendendo uma ou mais isoflavonas ou metabólitos de isoflavona e métodos para a indução do crescimento ósseo e para a inibição de perda óssea em um animal utilizando tais composições. As composições e os métodos são particularmente úteis para animais na pós-menopausa, na pós-andropausa, gonadectomizados, ooforectomizados ou castrados.