



REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL
MINISTÉRIO DA ECONOMIA
INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

CARTA PATENTE Nº PI 0809103-0

O INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL concede a presente PATENTE DE INVENÇÃO, que outorga ao seu titular a propriedade da invenção caracterizada neste título, em todo o território nacional, garantindo os direitos dela decorrentes, previstos na legislação em vigor.

(21) Número do Depósito: PI 0809103-0

(22) Data do Depósito: 24/03/2008

(43) Data da Publicação Nacional: 02/08/2016

(51) Classificação Internacional: A23L 33/16; A61K 33/06; A61K 31/198; A61K 31/225; A61K 35/20.

(52) Classificação CPC: A61K 33/06; A23L 33/16; A61K 31/198; A61K 31/225; A61K 35/20; A23V 2002/00.

(30) Prioridade Unionista: US 61/066,592 de 20/02/2008; US 60/994,902 de 20/09/2007; US 60/896,458 de 22/03/2007.

(54) Título: COMPOSIÇÃO CONTENDO MAGNÉSIO, SEU USO E COMPOSIÇÃO DE ALIMENTO

(73) Titular: NEUROCENTRIA, INC.. Endereço: 3423 Investment Blvd., Suite 8, Hayward CA 94545, US-Estados, ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA(US)

(72) Inventor: GUOSONG LIU; FEI MAO.

(87) Publicação PCT: WO 2008/116226 de 25/09/2008

Prazo de Validade: 20 (vinte) anos contados a partir de 24/03/2008, observadas as condições legais

Expedida em: 25/05/2021

Assinado digitalmente por:

Liane Elizabeth Caldeira Lage

Diretora de Patentes, Programas de Computador e Topografias de Circuitos Integrados

Relatório Descritivo da Patente de Invenção para
"COMPOSIÇÃO CONTENDO MAGNÉSIO, SEU USO E COMPOSIÇÃO DE ALIMENTO".

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

5 O magnésio está presente no corpo humano e desempenha múltiplos papéis. No nível molecular, o magnésio é um cofator para mais de 300 enzimas responsáveis por algumas atividades biológicas mais importantes em mamíferos, incluindo humanos. Em células vivas, o magnésio está envolvido na homeostasia de outros minerais, tais como sódio, potássio e cálcio, e na formação, transferência, armazenamento e utilização de trifosfato de adenosina (ATP), uma fonte muito importante de energia em células vivas. No corpo humano, o magnésio está envolvido na manutenção da função muscular e nervosa normal, ritmo cardíaco, resistência óssea, e saúde do sistema imunológico. O magnésio está envolvido também na regulação dos níveis sanguíneos de açúcares e na promoção da pressão sanguínea normal.

Foi relatado que o magnésio desempenha um papel na regulação da plasticidade sináptica (Slutsky *et al.*, *Neuron*, 44, 835-849 (2004)), um processo celular que se acredita esteja envolvido na organização de circuitos neurais durante o desenvolvimento precoce e no armazenamento de informações em estágios posteriores. O magnésio parece estar envolvido na supressão seletiva da assim denominada atividade sináptica de fundo, ou interferência de fundo, durante a qual os sinais neuronais significativos não são afetados. O magnésio, assim, parece aumentar a razão de sinal para interferência (S/N) da transmissão sináptica, e desta forma, intensificar a plasticidade sináptica.

As sinapses são genericamente menos plásticas no envelhecimento ou no cérebro doente. A perda de plasticidade no hipocampo, uma região do cérebro associada à memória de curto prazo, pode causar esquecimento comum em pessoas idosas. Tal perda de plasticidade pode levar a condições patológicas associadas a enfraquecimento cognitivo brando (MCI) ou, mais seriamente, à doença de Alzheimer (AD). Quanto a esta última, foi relatado que seres humanos mortos que estavam sofrendo de doença de

Alzheimer (AD) tinham níveis significativamente mais baixos de magnésio em regiões dos seus cérebros do que o tinham os seres humanos mortos da mesma idade que não estavam sofrendo de doença de Alzheimer (AD) (Andrasi *et al.*, *Magnésio Res.* 13(3), 189-196 (2000)). Quanto aos efeitos do envelhecimento, foi relatado que suplementando a dieta de ratos em envelhecimento com magnésio parece aumentar, no nível de expressão de uma molécula cerebral específica, o receptor de NMDA, um efeito associado à melhora da função cognitiva (publicação do pedido de patente nº US 2006/0089335 A1).

Apesar do papel fisiológico do magnésio na saúde humana, as pessoas podem não consumir o suficiente do mineral nas suas dietas. Estudos demonstraram que a ingestão dietética de magnésio tem sido historicamente inadequada na população dos Estados Unidos (Ford *et al.*, (2003) *J. Nutr.* 133, 2879-2882) ou relativamente baixa para certas camadas da população (Institute of Medicine, *For Calcium, Phosphorus, Magnésio, Vitamin D, and Flouride*, 202 e 393 (1997)). O *deficit* de magnésio pode levar a sintomas patológicos ou estar associado a muitos deles, tais como perda de apetite, náusea, vômito, fadiga, convulsões, ritmo cardíaco anormal, diabetes, e/ou doença cardiovascular, por exemplo. De acordo com vários estudos, o *deficit* de magnésio pode levar ao distúrbio de *deficit* de atenção com hiperatividade (ADHD) ou pode estar associado a ele em crianças, e os sintomas associados com ele (Kozielec *et al.*, *Magnes. Res.* 10(2), 143-148 (1997); e Mousain-Bosc *et al.*, *Magnes. Res.* 19(1), 46-52 (2006)).

Os suplementos de magnésio disponíveis comercialmente incluem comprimidos ou cápsulas de óxido de magnésio, vários compostos inorgânicos de magnésio, tais como hidróxido de magnésio, tais como hidróxido de magnésio e sulfato de magnésio, por exemplo, vários compostos de sais de magnésio com ácidos orgânicos, tais como sais de magnésio do ácido glicônico, ácido cítrico, e ácido láctico, por exemplo, e vários compostos de quelatos de magnésio. O óxido de magnésio pode ter um alto teor de magnésio elementar, mas biodisponibilidade muito baixa de magnésio, ou taxa de absorção no corpo humano muito baixa (Ranade *et al.*, *Am. J. Therapeut.* 8(5), 345-357 (2001)). Os compostos inorgânicos de magnésio tais como

hidróxido de magnésio e sulfato de magnésio, também podem ser deficientes em termos de biodisponibilidade de magnésio, e podem gerar um efeito colateral indesejável, diarreia. Os compostos de sais de magnésio com ácidos orgânicos, tais como os sais de magnésio do ácido glicônico, ácido cítrico, e ácido láctico, podem estar associados a sofrimento gastrointestinal, efeito laxante e/ou diarreia. Embora vários assim denominados compostos de quelatos de magnésio tenham sido promovidos como tendo melhor biodisponibilidade de magnésio, estes compostos podem ser altamente alcalinos e deficientes em termos de palatabilidade.

10 A ingestão diária recomendada de magnésio para um adulto é genericamente entre cerca de 15 mmol e 20 mmol (30 meq a 40 meq), e os níveis séricos normais de magnésio ficam em uma faixa entre 0,7 mmol/L e 1,0 mmol/L. Os alimentos que são ricos em magnésio incluem legumes, grãos integrais, vegetais folhosos verdes, nozes, café, chocolate e leite. Embora estes alimentos estejam facilmente disponíveis, alguns indivíduos não consomem quantidades adequadas para satisfazer ao requisito nutricional diário. Além disso, o consumo expandido de alimentos processados, que tendem a conter menos magnésio, pode ser responsável pelo declínio perceptível em magnésio dietético nos Estados Unidos durante o último século.

20 Assim sendo, o uso continuado de um suplemento oral de magnésio que proporciona absorção e biodisponibilidade confiáveis é recomendado para pessoas com deficiência de magnésio. Os suplementos orais de magnésio estão disponíveis em inúmeras formulações que utilizam um ânion ou sal diferente, tais como óxido, gliconato, cloreto ou lactato di-hidratado. Entretanto, estas preparações não são intercambiáveis porque elas têm diferenças em absorção, biodisponibilidade e palatabilidade.

25 O magnésio é absorvido principalmente no intestino delgado distal, e as pessoas saudáveis absorvem aproximadamente 30% a 40% do magnésio ingerido. Como o magnésio é predominantemente um cátion intracelular, a eficácia da forma de dosagem é avaliada por sua solubilidade e taxa de captação a partir do intestino delgado para dentro da corrente sanguínea e por sua transferência para dentro dos tecidos. O equilíbrio de magnésio é

30

regulado pelos rins. Quando os níveis de magnésio no sangue estão altos, os rins rapidamente excretarão o excedente. Quando a ingestão de magnésio é baixa, por outro lado, a excreção renal cai para 0,5 mmol a 1 mmol (1 meq a 2 meq) por dia.

5 Meios para disponibilizar magnésio para o corpo humano como um suplemento foram propostos nessas técnicas. Por exemplo, para o tratamento de arritmia, o sulfato de magnésio foi administrado por via intravenosa aos pacientes. Outros suplementos dietéticos incluíram óxido de magnésio, hidróxido de magnésio e carbonato de magnésio. Apesar da capacidade de estes compostos aumentarem os níveis de magnésio, eles são principalmente insolúveis no trato gastrointestinal, e assim sendo, não são facilmente distribuídos para o sistema gastrointestinal sem efeitos colaterais. Assim sendo, há uma necessidade considerável para se obter melhores composições de magnésio, seus usos e/ou tecnologia associada. A presente invenção satisfaz a estas necessidades e também proporciona as vantagens relacionadas.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Uma composição para administração a um indivíduo está aqui descrita. Tal composição pode compreender pelo menos um componente que compreende magnésio (MCC) ou é também aqui usada como composto de contra-íon de magnésio. Os exemplos de um componente que compreende magnésio incluem um sal de magnésio de um aminoácido, acetato de magnésio, ascorbato de magnésio, citrato de magnésio, gliconato de magnésio, lactato de magnésio, malato de magnésio, carboxilato de pirrolidona magnésio, taurato de magnésio, e treonato de magnésio. Tal composição pode compreender pelo menos um componente de leite não-acidificado suficiente para aumentar a biodisponibilidade de magnésio elementar associado com o componente que compreende magnésio (MCC). Os exemplos de tal componente incluem lactose, um ácido graxo ou gordura do leite e/ou outro componente orgânico deles, por exemplo, suficiente para esse aumento. Uma razão ponderal da quantidade de magnésio elementar associado com o pelo menos um MCC para a quantidade do componente pode ser entre cer-

ca de 1 a cerca de 5 e cerca de 1 a cerca de 3.000. Tal composição pode ser apropriada para administração oral a um indivíduo.

Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma forma de dosagem oral que compreende 300 mg a 1,5 g de treonato de magnésio. A forma de dosagem oral pode ser um comprimido, formulado na forma de líquido, em formato de liberação imediata ou prolongada. Em alguns aspectos, a forma de dosagem oral compreende uma pluralidade de pérolas encapsuladas em uma cápsula. Esse formato pode ser usado como uma formulação com liberação prolongada.

Em outra modalidade, a presente invenção fornece uma composição que contém magnésio, que tem as seguintes características: (a) o magnésio contido nela tem uma porcentagem em peso de pelo menos cerca de 8%; (b) um contra-íon compreende pelo menos dois grupos hidroxila; (c) a composição tem uma solubilidade de pelo menos 20 mg/mL; e (d) a composição apresenta um valor de pH entre cerca de 6 e 8,5 quando dissolvida em água.

A presente invenção fornece também uma dosagem oral que contém magnésio, que compreende um agente farmacologicamente ativo e um excipiente, onde o excipiente é treonato de magnésio.

A presente invenção fornece ainda uma composição alimentícia que compreende um carreador do alimento e um composto que contém magnésio, onde o composto que contém magnésio se distingue pelo fato de que: (a) o carbono contido dentro dele tem uma porcentagem em peso de pelo menos cerca de 8% do peso de um contra-íon; (b) um contra-íon compreende pelo menos dois grupos hidroxila; (c) a composição tem uma solubilidade de pelo menos cerca de 20 mg/mL; e (d) a composição apresenta um valor de pH entre cerca de 6 e 8,5 quando dissolvida em água. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio compreende treonato de magnésio. Em outras modalidades, a composição alimentícia é embalada como uma bebida, um alimento sólido ou um alimento semi-sólido. Em ainda outras modalidades, a composição alimentícia é embalada como uma barra de alimento leve, um produto de cereal, um produto de confeitaria ou um

produto lácteo. A composição alimentícia pode ser leite ou um refrigerante. Em algumas modalidades, a composição alimentícia compreende: uma quantidade eficaz de magnésio ou um sal dele, para modular a função cognitiva em um indivíduo que necessita dele e um carreador de alimento. Quando desejado, a composição alimentícia compreende treonato de magnésio. Em algumas modalidades, a composição alimentícia contém magnésio ou um seu sal presente em uma quantidade eficaz para intensificar a memória de curto prazo ou a memória de longo prazo, melhorar demência ou melhorar depressão. É fornecida também um suplemento alimentício que compreende treonato de magnésio. Fornece-se também um método para preparar um suplemento alimentício, compreendendo misturar treonato de magnésio com um agente aditivo. Em algumas modalidades, o agente aditivo alimentício é um agente edulcorante, um agente saporífero, um agente colorante, um agente de enchimento, um agente aglutinante, um agente lubrificante ou um agente conservante.

Uma composição, *kit* e/ou método aqui descrito pode ser útil para os propósitos aqui descritos, tais como manter, intensificar e/ou melhorar a saúde, nutrição e/ou outra condição de um indivíduo e/ou a função cognitiva, de aprendizado e/ou memória, por exemplo, tal como deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando (MCI), doença de Alzheimer (AD), distúrbio de *deficit* de atenção com hiperatividade (ADHD), esclerose lateral amiotrófica (ALS) ou doença de Lou Gehrig, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, ansiedade, humor, e hipertensão, meramente a título exemplificativo.

Um método para suprir suplementação de magnésio para um indivíduo é aqui descrito. Tal método pode compreender administrar ao indivíduo pelo menos um componente que compreende magnésio (MCC), tais como aqueles descritos acima. Tal método pode compreender a administração ao indivíduo de pelo menos um componente de leite não-acidificado suficiente para aumentar a biodisponibilidade de magnésio elementar associado com o componente que compreende magnésio (MCC), tais como aqueles descritos acima. Uma razão ponderal da quantidade de magnésio elementar

associado com o pelo menos um MCC para a quantidade do componente pode ser como descrita acima. Tal método pode compreender a administração oral ao indivíduo.

Em uma modalidade, a presente invenção fornece um método para intensificar a função cognitiva. O método compreende administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio a cerca de 0,75 mM ou acima, onde a dita concentração de magnésio é medida sob uma condição de jejum. Em alguns casos, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo menos cerca de doze horas. Em outros casos, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática, ou concentração no líquido cerebrospinal. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em outras modalidades, o contra-íon é um íon orgânico. Em outros casos, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. É fornecido também um método no qual a função cognitiva é memória de curto prazo ou memória de longo prazo. Em alguns casos, a concentração fisiológica é mantida por um período maior do que um mês.

Em uma modalidade, um método para manter a função cognitiva é fornecido, onde o método compreende administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para aumentar a concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 10% em comparação com um nível inicial de magnésio antes da administração. Em alguns casos, o aumento é medido sob uma condição de jejum. Em outros casos, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática ou concentração no líquido cerebrospinal. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em outras modalidades, o contra-íon é um contra-íon orgânico. Em uma modalidade específica, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em ainda outras modalidades, a concentração é mantida por

um período maior do que quatro meses. Em ainda outra modalidade, o método compreende a etapa de determinar a concentração fisiológica inicial de magnésio do indivíduo sob uma condição de jejum.

Fornece-se também um método para manter e/ou intensificar a função cognitiva, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade de complexo de contra-íon orgânico metálico, eficaz para aumentar a concentração fisiológica de treonato em pelo menos cerca de 10% em comparação com um nível inicial de treonato antes da dita administração. Em alguns casos, o complexo de contra-íon orgânico metálico compreende treonato como um contra-íon.

Em outro aspecto da invenção, fornece-se um método para tratamento terapêutico ou profilático de uma disfunção cognitiva, onde o método compreende administrar a um indivíduo, que necessita de tratamento terapêutico ou profilático de disfunção cognitiva, uma composição que contém magnésio, para produzir um nível de concentração fisiológica de magnésio prolongada no nível de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias. Em alguns casos, o magnésio é prolongado no nível de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de um mês ou pelo menos cerca de quatro meses. Em outros casos, a concentração de magnésio é concentração plasmática de magnésio medida depois de jejuar por pelo menos cerca de oito horas. Em algumas modalidades, o indivíduo é um adulto. Em outras modalidades, o indivíduo é um paciente que sofre ou foi diagnosticado com demência ou doença de Alzheimer.

Quando desejado, pode-se administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio em cerca de 0,78 mM, 0,8 mM, 0,82 mM, 0,84 mM, 0,86 mM, 0,88 mM, 0,90 mM, 0,92 mM, 0,94 mM, 0,96 mM, 0,98 mM, ou acima. Em um aspecto, tal concentração de magnésio é mantida por pelo menos 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano, 1,5 ano, 2 anos, ou mesmo por mais tempo. De preferência, a concentração de magnésio é medida sob uma condição de jejum, por exemplo, jejuando por pelo menos cerca de 8 horas, 10 horas, 12 horas, 15 horas, 24 horas, ou

mesmo por um tempo mais longo. A concentração fisiológica de magnésio pode ser concentração sérica, concentração plasmática ou concentração no líquido cefalorraquidiano. Tal concentração fisiológica pode ser determinada medindo magnésio ionizado intracelular em eritrócitos, teor ósseo de magnésio, concentração de magnésio no líquido cefalorraquidiano, magnésio livre intracelular em ensaio de magnésio sublingual, ou espectroscopia de ressonância magnética nuclear. Em alguns aspectos, o composto que contém magnésio é eficaz para melhorar memória de curto prazo ou longo prazo.

Em uma modalidade relacionada, a presente invenção fornece um método para tratamento terapêutico ou profilático de disfunção cognitiva, compreendendo: administrar a um indivíduo que necessita de tratamento terapêutico ou profilático de disfunção cognitiva uma composição de magnésio que produz um nível prolongado de concentração fisiológica de magnésio de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias, por exemplo, depois de múltiplas dosagens. De preferência, o efeito benéfico pode durar mais do que 20 dias, 25 dias, 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano, 1,5 ano, 2 anos ou mais.

Em outra modalidade, a presente invenção fornece um método para melhorar os efeitos de um distúrbio neurológico. O método compreende administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 10% em comparação com um nível inicial de magnésio antes da administração. Em alguns casos, o aumento é medido sob uma condição jejum. Em outros casos, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo menos cerca de doze horas. Em algumas modalidades deste método, o distúrbio neurológico é demência, doença de Alzheimer ou depressão. Em outras modalidades do método, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática ou concentração no líquido cefalorraquidiano. Em algumas modalidades deste método, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Quando desejado, o contra-íon é um íon orgânico. Em uma modalidade específica, o contra-íon orgânico é treonato. Em alguns casos, o composto que contém

magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em alguns casos deste método, a concentração é mantida por um período maior do que quatro meses. Em outras modalidades, o método compreende ainda a etapa de determinar a concentração fisiológica inicial de magnésio do indivíduo sob uma condição de jejum.

Em ainda outro aspecto, a presente invenção fornece um método de tratamento terapêutico ou profilático de um distúrbio neurológico, compreendendo administrar a um indivíduo, que necessita de tratamento terapêutico ou profilático do dito distúrbio neurológico, uma composição que contém magnésio para produzir um nível prolongado de concentração fisiológica de magnésio 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias. Em algumas modalidades, a composição de magnésio produz um nível prolongado de concentração fisiológica de magnésio 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de um mês ou pelo menos cerca de quatro meses. Em alguns casos, o distúrbio neurológico é demência, depressão ou doença de Alzheimer.

Em ainda outra modalidade, é fornecido um método de tratamento terapêutico ou profilático de um distúrbio neurológico, onde o método compreende administrar a um indivíduo uma quantidade de complexo de contra-íon orgânico metálico, eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de treonato em pelo menos cerca de 10%, em comparação com um nível inicial de treonato antes da dita administração. Em alguns casos, o complexo de contra-íon orgânico metálico compreende treonato como um contra-íon.

Fornece-se também um método para melhorar os efeitos de um distúrbio metabólico, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para aumentar a concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 10%, comparado com um nível inicial de magnésio antes da dita administração. Em alguns casos, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo menos cerca de doze horas. Em outros casos, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática, or concentração no líquido cere-

brospinal. Em algumas modalidades deste método, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em outras modalidades, o contra-íon é um íon orgânico. Em uma modalidade específica, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em algumas modalidades, o distúrbio metabólico é diabetes. Em outras modalidades, a concentração é mantida por um período maior do que 1 mês.

Em ainda outro aspecto da presente invenção, fornece-se um método de tratamento terapêutico ou profilático de um distúrbio metabólico, onde o método compreende administrar a um indivíduo, que necessita de tratamento terapêutico ou profilático de um distúrbio metabólico, uma composição que contém magnésio, para produzir um nível de concentração fisiológica de magnésio prolongada no nível de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias. Em alguns casos, o magnésio tem seu nível prolongado no nível de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 1 mês ou pelo menos cerca de quatro meses. Em outros casos, a concentração de magnésio é concentração plasmática de magnésio medida depois de jejuar por pelo menos cerca de 8 horas. Em algumas modalidades, o indivíduo é um adulto.

Em ainda outro aspecto da presente invenção, fornece-se um método de tratamento terapêutico ou profilático de um distúrbio metabólico, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade de complexo de contra-íon orgânico metálico, eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de treonato em pelo menos cerca de 10%, comparado com um nível inicial de treonato antes da dita administração. Em algumas modalidades, o complexo de contra-íon orgânico metálico compreende treonato como um contra-íon. Em outras modalidades, o complexo de contra-íon orgânico metálico é treonato de magnésio. Em ainda outras modalidades, o complexo de contra-íon orgânico metálico é administrado por via oral. Em ainda outras modalidades, o complexo de contra-íon orgânico metálico é fornecido como um suplemento alimentício.

Outra modalidade fornece um método para prolongar o período de vida de um indivíduo, compreendendo administrar ao dito indivíduo uma

quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio cerca de 0,75 mM ou acima, prolongando desta forma o período de vida do dito indivíduo, onde a dita concentração é medida sob uma condição de jejum. Em algumas modalidades, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo menos cerca de doze horas. Em outras modalidades, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática, ou concentração no líquido cefalorraquidiano. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em outras modalidades, o contra-íon é um contra-íon orgânico. Em uma modalidade específica, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o dito composto que contém magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em algumas modalidades, a concentração é mantida por um período maior do que 1 mês.

Outra modalidade fornece um método para prolongar o período de vida de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 10%, comparado com um nível inicial de magnésio antes da dita administração. Em algumas modalidades, o aumento é medido sob uma condição de jejum. Em algumas modalidades, a concentração fisiológica é concentração sérica, concentração plasmática, ou concentração no líquido cefalorraquidiano. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em algumas modalidades, o contra-íon é um contra-íon orgânico. Em algumas modalidades, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em algumas modalidades, a concentração é mantida por um período maior do que 4 meses. Em algumas modalidades, o método compreende ainda a etapa de determinar a concentração fisiológica inicial do dito indivíduo sob uma condição de jejum.

Ainda outra modalidade da presente invenção fornece um método para prolongar o período de vida de um indivíduo, compreendendo administrar a um indivíduo uma quantidade de complexo de contra-íon orgânico

metálico, eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de treonato em pelo menos cerca de 10%, comparado com um nível inicial de treonato antes da dita administração. Em algumas modalidades, o complexo de contra-íon orgânico metálico compreende treonato como um contra-íon.

5 É fornecido também um método para determinar uma quantidade eficaz de magnésio, para produzir um efeito fisiológico, compreendendo as etapas de: (a) obter uma amostra de um indivíduo que está sendo tratado, onde a dita amostra é coletada sob uma condição de jejum; (b) determinar uma concentração fisiológica de magnésio a partir da dita amostra; e (c)
10 fornecer para o indivíduo um esquema de dosagem de um composto que contém magnésio eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio a cerca de 0,75 mM ou acima. Em algumas modalidades, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo menos cerca de doze horas. Em outras modalidades, a concentração fisiológica é concentração
15 sérica, concentração plasmática, ou concentração no líquido cefalorraquidiano. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio é um composto de contra-íon de magnésio. Em ainda outras modalidades, o contra-íon é um contra-íon orgânico. Em uma modalidade específica, o contra-íon orgânico é treonato. Em algumas modalidades, o composto que contém magnésio
20 é um produto alimentício suplementado com magnésio. Em outra modalidade, o método compreende ainda a etapa de determinar a concentração fisiológica de magnésio depois que o dito indivíduo iniciou o dito esquema de dosagem.

 Outra modalidade da presente invenção fornece um método para
25 determinar uma quantidade eficaz de magnésio para produzir um efeito fisiológico, compreendendo as etapas de: (a) obter uma amostra de um indivíduo que está sendo tratado, onde a dita amostra é coletada sob uma condição de jejum; (b) determinar uma concentração fisiológica de magnésio a partir da dita amostra; e (c) fornecer para o indivíduo um esquema de dosagem de um composto que contém magnésio, eficaz para atingir um aumento
30 em uma concentração fisiológica de magnésio de pelo menos 10%, comparado com um nível inicial de magnésio medido sob uma condição de jejum.

Quando desejado, a quantidade do composto que contém magnésio é eficaz para aumentar uma concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 12%, 14%, 15%, 20%, 25% ou mais, comparado com um nível inicial de magnésio antes da dita administração. O aumento em
5 concentração fisiológica de magnésio pode durar por pelo menos 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano, 1,5 ano, 2 anos, ou mesmo mais. Como aqui assinalado, o aumento na concentração fisiológica de magnésio e, preferênciamente, medido depois de uma condição de jejum. Os distúrbios neurológicos que podem ser melhorados pelo método em questão
10 incluem, porém sem limitações, demência, doença de Alzheimer, e depressão. Em uma modalidade relacionada, porém separada, a presente invenção fornece um método para melhorar depressão administrando a um indivíduo, que necessita de um tratamento terapêutico ou profilático de depressão, uma composição de magnésio, para produzir um nível prolongado de con-
15 centração fisiológica de magnésio 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias, por exemplo, depois de múltiplas dosagens. De preferência, o efeito benéfico pode durar mais tempo do que 20 dias, 25 dias, 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano, 1,5 ano, 2 anos ou mais.

Em ainda outra modalidade, a presente invenção fornece um
20 método para aumentar a densidade óssea. O método compreende a etapa de administrar a um indivíduo, que necessita de um tratamento terapêutico ou profilático de densidade óssea, uma composição de magnésio para prolongar o nível de 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias, 20 dias, 25 dias, 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano,
25 1,5 ano, 2 anos ou mais.

Em ainda outra modalidade, a presente invenção fornece um método para prolongar o período de vida de um indivíduo, compreendendo administrar ao dito indivíduo uma quantidade de composto que contém magnésio, eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio cerca de
30 0,75 mM ou acima, prolongando desta forma o período de vida do dito indivíduo, onde a dita concentração é medida sob uma condição de jejum. É também fornecido, em uma modalidade relacionada, um método para au-

mentar o período de vida esperado de um indivíduo, compreendendo: administrar a um indivíduo uma composição de magnésio, para produzir um nível prolongado de concentração fisiológica de magnésio 0,75 mM ou acima por pelo menos cerca de 15 dias, 20 dias, 25 dias, 1 mês, 2 meses, 3 meses, 4
5 meses, 5 meses, 6 meses, 1 ano, 1,5 ano, 2 anos ou mais.

A presente invenção fornece também um método para determinar uma quantidade eficaz de magnésio, para produzir um efeito fisiológico. O método compreende as etapas de: (a) obter uma amostra de um indivíduo que está sendo testado, onde a dita amostra é coletada sob uma condição
10 de jejum; (b) determinar uma concentração fisiológica de magnésio a partir da dita amostra; e (c) fornecer para o indivíduo um esquema de dosagem de um composto que contém magnésio eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio cerca de 0,75 mM ou acima. Em uma modalidade relacionada, porém separada, o método para determinar uma quantidade
15 eficaz de magnésio para produzir um efeito fisiológico compreende as etapas de (a) obter uma amostra de um indivíduo que está sendo testado, onde a dita amostra é coletada sob uma condição de jejum; (b) determinar uma concentração fisiológica de magnésio a partir da dita amostra; e (c) fornecer para o indivíduo um esquema de dosagem de um composto que contém
20 magnésio eficaz para atingir uma concentração fisiológica de magnésio por pelo menos 10%, comparado com um nível inicial de magnésio medido sob uma condição de jejum. O efeito fisiológico engloba função cognitiva intensificada (por exemplo, memória de curto prazo ou memória de longo prazo), melhorar um efeito de um distúrbio neurológico tal como doença de Alzheimer or depressão.
25

Estes e vários outros aspectos, características, e modalidades são aqui descritos adicionalmente. Qualquer outra parte deste pedido de patente é incorporada como referência neste sumário até o grau igual em que a mesma possa facilitar um sumário do tema em questão aqui descrito,
30 tal como a matéria em questão que aparece em qualquer reivindicação ou reivindicações, que possa estar associada a este pedido de patente.

Em uma modalidade relacionada, porém separada, a presente

invenção fornece uma forma de dosagem oral que compreende cerca de 0,1 mg a 800 mg de treonato de magnésio. Quando desejado, a forma de dosagem compreende entre cerca de 1 mg e cerca de 100 mg, 10 mg a cerca de 500 mg, ou mais de treonato de magnésio. Em algumas modalidades, a forma de dosagem oral é substancialmente isenta de excipiente. A forma de dosagem oral pode estar na forma de um comprimido, cápsula, ou qualquer outro formato conhecido. A presente invenção fornece também suplementos alimentícios que compreendem o MCC em questão ou composto de contra-
 5 ção de magnésio.

10 Fornece-se também um método para determinar uma quantidade de componente que contém magnésio, que é necessária para produzir um efeito fisiológico em um indivíduo, compreendendo as etapas de:

- a. Obter uma amostra de fluido biológico do indivíduo; e
- b. Calcular a quantidade de magnésio a ser suprida para o dito

15 indivíduo de acordo com a fórmula:

$$Mg_x = GFR \cdot T \cdot Mg_{mw} \cdot k_e \cdot \left([Mg]_o^2 - [Mg]_o^1 \right) / k_x$$

em que Mg_x é a quantidade eficaz de magnésio a ser suprida para o dito indivíduo;

20 em que $[Mg]_o^1$ é a concentração inicial de magnésio em compartimento extracelular;

em que K_x é a biodisponibilidade do dito componente que contém magnésio;

em que GFR é a taxa de filtração glomerular;

em que k_e é a taxa de excreção do Mg filtrado no rim;

25 em que T é o tempo em horas;

em que Mg_{mw} é o peso molecular do magnésio elementar; e

em que $[Mg]_o^2$ é uma concentração de magnésio desejada para atingir depois de suplementar o dito indivíduo com a quantidade determinada de componente que contém magnésio.

30 Em algumas modalidades, a concentração de magnésio no dito fluido biológico é medida sob uma condição de jejum. Em algumas modalidades, a concentração de magnésio é medida depois de jejuar por pelo me-

nos cerca de doze horas. Em algumas modalidades, o fluido biológico é selecionado entre sangue, soro, e plasma. Em algumas modalidades, a quantidade de magnésio suprida é eficaz para atingir um aumento em uma concentração fisiológica de magnésio de pelo menos cerca de 5%, comparado com um nível inicial de magnésio medido sob uma condição de jejum.

INCORPORAÇÃO POR REFERÊNCIA

Todas as publicações e pedidos de patente mencionados neste relatório descritivo são aqui incorporados por referência até o mesmo grau em que cada publicação ou pedido de patente individual fosse especificamente e individualmente indicado para ser incorporado por referência.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

As características inusitadas da invenção estão enunciadas com particularidade nas reivindicações apensadas. Uma melhor compreensão das características e vantagens da presente invenção será conseguida fazendo referência à descrição detalhada que se segue que enuncia modalidades ilustrativas nas quais os princípios da invenção são utilizados, e os desenhos anexos dos quais:

Uma descrição dos vários aspectos, características, modalidades, e exemplos é aqui fornecida fazendo referência aos desenhos anexos que estão descritos resumidamente abaixo. Os desenhos podem ilustrar um ou mais aspectos, características, modalidades e/ou exemplos na totalidade ou em parte. Os desenhos são ilustrativos e não estão necessariamente desenhados em escala.

A figura 1 é uma apresentação gráfica de resultados de um teste de sabor referente a duas composições diferentes que compreendem leite e várias fontes de magnésio, como descrito adicionalmente no Exemplo 2.

A figura 2 é uma apresentação gráfica da intensificação da taxa de absorção em quatro grupos de ratos adultos jovens que foram expostos, respectivamente, a quatro composições diferentes: 1) gliconato de magnésio (12 mM) em leite desnatado; 2) gliconato de magnésio (12 mM) em leite preparado a partir de leite em pó; 3) gluconato de magnésio (12 mM) em água, compreendendo 1% de nata; ou 4) gliconato de magnésio (12 mM) em água,

compreendendo 5 por cento em peso de lactose. A intensificação da absorção de magnésio foi medida como uma porcentagem em relação à taxa de absorção de magnésio em um grupo de controle de ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição que compreende gliconato de magnésio (12 mM) e água, como descrito adicionalmente no Exemplo 3.

A figura 3 é uma apresentação gráfica da taxa de absorção de magnésio em ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição de uma mistura de componentes de contra-íon de magnésio e água e a taxa de absorção de magnésio em ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição da mesma mistura de componentes de contra-íon de magnésio e leite desnatado, como descrito adicionalmente no Exemplo 4.

A figura 4 é uma apresentação gráfica da taxa de absorção de magnésio em ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição de cloreto de magnésio e água, gliconato de magnésio e leite desnatado, ou gliconato de magnésio e em água compreendendo 5 por cento em peso de lactose, versus a ingestão de magnésio elementar (mg/dia/rato), como descrito adicionalmente no Exemplo 5.

A figura 5 é uma apresentação gráfica da taxa de absorção de magnésio em ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição de cloreto de magnésio e água, ou treonato de magnésio e água, versus a ingestão de magnésio elementar (mg/dia/rato), como descrito adicionalmente no Exemplo 6.

A figura 6 é uma apresentação gráfica da concentração de magnésio média no soro coletado de ratos adultos jovens que foram expostos a uma composição de cloreto de magnésio e água, treonato de magnésio e água, ou uma mistura de gliconato de magnésio, lactado de magnésio, citrato de magnésio e leite desnatado, ou água desmineralizada, como descrito adicionalmente no Exemplo 7.

A figura 7 é uma representação gráfica da porcentagem média da melhora dos resultados de memória de trabalho especial para vários ratos jovens e velhos que foram alimentados com várias dietas, plotada por vários dias de um período de treinamento e teste (quadros A e B); e o au-

mento da porcentagem em ratos jovens e velhos que receberam suplementação de magnésio (quadro C).

5 A figura 8 é uma representação gráfica de dados experimentais que ilustram o efeito restaurador de magnésio sobre a memória de reconhecimento de curto prazo em ratos. A parte do topo da figura é uma representação gráfica da metodologia experimental.

10 A figura 9 é uma representação gráfica de dados experimentais que ilustram o aumento no curso de tempo de declínio da memória de reconhecimento em ratos que receberam magnésio. A parte do topo da figura é uma representação gráfica da metodologia experimental.

15 A figura 10 é uma representação gráfica dos resultados de uma tarefa de labirinto em T elevado para ratos jovens e velhos. Os dados representados demonstram que o magnésio melhora a memória espacial de trabalho e de curto prazo em ratos em envelhecimento. A parte do topo da figura é uma representação gráfica da metodologia experimental.

A figura 11 é uma representação gráfica de resultados experimentais que leva a uma intensificação de um curto prazo de memória em ratos recebendo uma mistura de magnésio e 5% lactose.

20 Figura 12 é uma representação gráfica dos resultados experimentais de um teste de labirinto com água conduzido em ratos jovens e velhos. Os dados representados indicam que a suplementação com treonato de magnésio leva à intensificação do aprendizado e memória de longo prazo em ratos jovens e adultos.

25 A figura 13 é uma representação gráfica dos resultados de um teste de memória conduzido em ratos jovens e velhos. Os dados demonstram que a suplementação com magnésio intensifica a memória em ambas populações.

30 A figura 14 é uma representação gráfica dos resultados experimentais de testes padronizados de desenlace conduzidos em ratos velhos. Os dados demonstram os efeitos de treonato de magnésio sobre o processo de memória. A parte do topo da figura é uma representação gráfica da metodologia experimental.

A figura 15 é uma representação gráfica dos efeitos de of treonato de magnésio sobre o processo de memória em um modelo de camundongo da doença de Alzheimer (AD). Os dados demonstram que o aprendizado (quadros A e C) e memória (quadros B e D) nos meses 6 e 13 são melhorados quando camundongos com doença de Alzheimer recebem treonato de magnésio.

A figura 16 é uma representação gráfica dos resultados de uma comparação de aprendizado (quadro A) e memória (quadro B) de tratamento com treonato de magnésio e com os fármacos Aricept ou Memantina usados para tratar doença de Alzheimer (AD).

Figura 17 é uma representação gráfica de níveis da concentração sérica de magnésio em homens e mulheres.

A figura 18 é uma representação gráfica de níveis da concentração sérica de magnésio em mulheres com idades entre 18 e 35 anos.

A figura 19 é uma representação gráfica da correlação da ingestão de magnésio e efeitos sobre a memória de curto prazo.

A figura 20 é uma representação gráfica da correlação de concentração plasmática de magnésio e efeitos sobre a memória de curto prazo.

A figura 21 é uma representação gráfica da correlação entre a ingestão de magnésio e maior motilidade em camundongos com e sem doença de Alzheimer (AD) em 7 meses e 15 meses.

A figura 22 é uma representação gráfica dos efeitos antidepressivos de magnésio.

A figura 23 é uma representação gráfica do efeito de magnésio sobre o período de vida de *Drosophila*.

A figura 24 é uma representação gráfica da correlação entre aumento de período de vida e ingestão de magnésio em *Drosophila*.

A figura 25 é uma representação gráfica da biodisponibilidade de diferentes composições que contêm magnésio.

A figura 26 é uma representação gráfica da correlação entre concentração de magnésio no cérebro, a quantidade de ingestão de magnésio (quadro A) e a correlação entre efeitos sobre a memória de curto prazo

(quadro B).

A figura 27 é uma representação gráfica da eficácia de treonato de magnésio, comparada com gliconato de magnésio no leite, na absorção pelo cérebro (quadro A). Está ilustrada também uma comparação dos resultados de um teste de memória usando treonato de magnésio (quadro B) e gliconato de magnésio + leite (quadro C).

A figura 28 é uma representação gráfica de um método para determinar um esquema de dosagem de magnésio eficaz baseado na concentração basal de magnésio sob condições de jejum. O quadro A demonstra a relação entre concentração sanguínea e urinária de magnésio e o quadro B ilustra o uso da concentração de magnésio no compartimento extracelular e na urina para determinar a dosagem apropriada.

A figura 29 ilustra a proteção da perda de sinapse em camundongos com doença de Alzheimer (AD) pelo tratamento com treonato de magnésio. O quadro A demonstra a contagem mais baixa de sinapses no giro denteado do hipocampo de camundongos com AD. O quadro B demonstra a densidade sináptica mais alta na mesma região. O quadro C demonstra a comparação quantitativa das densidades sinápticas em camundongos com AD, camundongos com AD tratados com MgT, e camundongos do tipo selvagem.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Embora as modalidades preferidas da presente invenção tenham sido aqui ilustradas e decritas, deve ficar óbvio para os versados nessas técnicas que essas modalidades são fornecidas apenas a título exemplificativo. Inúmeras variações, mudanças, e substituições irão agora ocorrer para os versados nessas técnicas, sem fugir do âmbito da invenção. Deve-se entender que várias alternativas às modalidades da invenção aqui descrita podem ser empregadas para praticar a invenção. Pretende-se que as reivindicações que se seguem definam o âmbito da invenção e que os métodos e estruturas dentro do âmbito destas reivindicações e seus equivalentes estejam cobertas por elas.

Deve-se entender que uma palavra que aparece aqui no singular

engloba sua correspondente no plural, e uma palavra que aparece aqui no plural engloba sua correspondente no singular, a menos que implícita ou explicitamente entendido ou afirmado de outra forma. Além disso, deve-se entender que qualquer dado componente aqui descrito, qualquer um dos

5 candidatos ou alternativas possíveis listados para esse componente, podem ser geralmente usados individualmente ou em qualquer combinação entre si, a menos que implícita ou explicitamente afirmado de outra forma. Adicionalmente, deve-se entender que qualquer lista de tais candidatos ou alternativas, é meramente ilustrativa, não-limitativa, a menos que implícita ou explicitamente entendido ou afirmado de outra forma. Além disso, deve-se entender que qualquer cifra ou número ou quantidade aqui apresentada é aproximada, e que qualquer faixa numérica inclui o número mínimo e o número máximo que definem a faixa, seja ou não empregada a palavra "inclusive" ou similares, a menos que implícita ou explicitamente entendido ou afirmado de

10 outra forma. Genericamente, o termo "aproximadamente" ou "cerca de" ou o símbolo "~" com referência a uma cifra ou número ou quantidade inclui números que caem dentro de uma faixa de $\pm 5\%$ dos mesmos, a menos que implícita ou explicitamente entendido ou afirmado de outra forma. Além disso, deve-se entender que qualquer título é empregado a título de conveniência, porém não a título de limitação. Adicionalmente, deve ser entendido que qualquer linguagem admissível, aberta, ou ilimitada engloba qualquer linguagem relativamente admissível a restritiva, menos aberta até fechada, ou menos aberta até limitada, respectivamente, a menos que implícita ou explicitamente entendido ou afirmado de forma diferente. Meramente a título exemplificativo, a palavra "compreendendo" pode englobar "compreendendo",

15 "consistindo essencialmente em", e/ou "consistindo em" tipo de linguagem.

Uma composição de contra-íon de magnésio, um *kit* e/ou um método aqui descrito pode ser útil para os propósitos aqui descritos, tais como manter, intensificar e/ou melhorar a saúde, nutrição e/ou outra condição

20 de um indivíduo, e/ou função cognitiva, de aprendizado e/ou memória, por exemplo, tais como deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando (MCI), Doença de Alzheimer (AD), transtorno de *deficit* de atenção

com hiperatividade (ADHD), ALS, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, ansiedade, humor, e hipertensão, meramente a título exemplificativo. Fornece-se aqui uma descrição de vários aspectos, características, modalidades, e exemplos.

5 O nível de magnésio no corpo entre a população humana varia de pessoa para pessoa, distribuído aproximadamente de acordo com uma curva gaussiana. Por exemplo, em um levantamento entre 9.506 homens e mulheres brancas, os níveis séricos de Mg ficaram distribuídos entre cerca de 0,75 mM e cerca de 0,95 mM, sendo que a maioria dos indivíduos tinha
10 um nível sérico de magnésio perto do meio da distribuição. A distribuição em homens e mulheres está ilustrada na figura 17 (adotada a partir de Kao *et al.*, *Arch. Intern. Med.* 159: 2151-9 (1999); figura 18). A distribuição em níveis séricos de magnésio entre mulheres jovens e saudáveis também foi relatada e demonstra um padrão de distribuição similar, como ilustrado na figura 18
15 (adotada a partir de Cole e Quamme, *J. Amer. Soc. Nephrol.* 11: 1937-47 (2000)). Entretanto, outros estudos indicaram que os níveis sanguíneos (séricos ou plasmáticos) de magnésio em pacientes com doença de Alzheimer (AD) são aproximadamente 20% mais baixos do que em grupos de controle saudáveis (vide, por exemplo, Lemke, *Biol. Psychiatry.* 37: 341-3 (1995); Cilliler *et al. Gerontology.* 53: 419-22 (2007)).
20

Inúmeros métodos foram usados para avaliar os níveis de magnésio no corpo de seres humanos. Estes métodos diferem entre si no tipo de amostra e na técnica analítica usadas. O soro e plasma têm sido os dois tipos de amostras mais comumente usados, embora alguns estudos tenham
25 usado eritrócitos ou amostras de tecido. Dentre as técnicas de detecção de Mg usadas estão: técnica com corante baseada em absorvância, técnica de absorção atômica, técnica com eletrodos seletivos de íons e técnica de RMN. As duas primeiras técnicas medem a concentração total de magnésio, que incluem Mg^{2+} livre ionizado e Mg^{2+} ligado a proteínas e outras moléculas na
30 amostra, enquanto que as duas últimas técnicas medem apenas magnésio ionizado.

Um problema importante com os vários métodos mencionados

acima é a falta de um teste padronizado, incluindo uma condição padronizada sob a qual um teste é realizado. Existe também uma compreensão deficiente sobre a interrelação entre os valores experimentais obtidos a partir dos vários métodos. Por esta razão, a faixa de níveis sanguíneos de magnésio (séricos ou plasmáticos) relatados para indivíduos ou pacientes saudáveis pode variar amplamente de estudo para estudo e de laboratório para laboratório. Por exemplo, Cilliler, *et al.* relataram que os níveis séricos médios de Mg para pacientes com doença de Alzheimer (AD) foram diagnosticados como brandos e moderados, pacientes com doença de Alzheimer diagnosticada como grave, e indivíduos do controle sem doença de Alzheimer, foram 0,92 mM (2,197 mg/dL), 0,88 mM (2,11 mg/dL) e 1,05 mM (2,51 mg/dL), respectivamente. Embora a tendência para nível de magnésio no sangue entre pacientes com doença de Alzheimer e seus indivíduos do controle saudáveis seja consistente com descobertas anteriores, os valores absolutos dos níveis séricos de magnésio determinados por esses autores são significativamente mais altos do que aqueles relatados alhures. Por exemplo, as concentrações séricas de magnésio 0,92 e 0,88 mM relatadas por Cilliler, *et al.* são ainda mais altas do que as médias da concentração sérica de magnésio em pessoas saudáveis, ilustradas nas figuras 17 e 18. Em outro estudo feito por Garba, *et al.*, o nível sérico médio de Mg entre 20 indivíduos velhos saudáveis com 18 a 40 anos de idade foi apenas 0,27 mM (640 µg/dL).

Contribuindo ainda mais para a confusão está a falta de orientação sobre o *tempo* da amostragem. Em alguns estudos, os indivíduos foram submetidos a um jejum de um dia para o outro antes que as amostras de sangue fossem coletadas, enquanto que em alguns outros estudos, este protocolo de amostragem não foi seguido claramente. Parte da confusão pode estar relacionada ao fato de que a maioria das orientações clínicas para o teste de magnésio não requer qualquer preparação (tal como jejum) para o teste (vide, por exemplo, <http://health.nytimes.com/health/guides/test/serum-magnesium-test/overview.html>; http://www.med.umich.edu/1libr/aha/aha_smagnesi_crs.htm; e

http://www.privatendlabs.com/lp/magnesium_info.php). Assim sendo, os procedimentos de amostragem não-padronizados podem ser um fator contribuidor importante responsável pelas amplas variações de níveis de magnésio no sangue humano relatadas na literatura. Um aspecto da presente invenção fornece um método para padronizar a determinação das concentrações fisiológicas do magnésio. Outro aspecto da presente invenção é utilizar tais determinações para fornecer orientações para a suplementação de magnésio intensificar os efeitos benéficos do magnésio.

Em uma modalidade, a presente invenção fornece uma faixa de concentrações fisiologicamente úteis de magnésio para produzir um efeito fisiológico desejado. Em algumas modalidades, estas concentrações são concentrações "alta finalidade". Tais concentrações de "alta finalidade" incluem concentração sérica de magnésio a partir de cerca de 0,60 mM, 0,65 mM, 0,70 mM, 0,75 mM, 0,80 mM, 0,85 mM, 0,95 mM, 1,0 mM, 1,05 mM, 1,10 mM, 1,15 mM até 1,2 mM ou mesmo mais alta, concentração plasmática de magnésio a partir de cerca de 0,70 mM, 0,75 mM, 0,80 mM, 0,85 mM, 0,95 mM, 1,0 mM, até 1,05 mM ou mesmo mais alta e/ou concentração de magnésio ionizado no sangue a partir de cerca de 0,50 mM, 0,55 mM, 0,60 mM, 0,65 mM, até cerca de 0,70 mM. Em algumas outras modalidades, o composto em questão, que contém magnésio é eficaz para aumentar a concentração fisiológica de magnésio em pelo menos cerca de 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 20%, 25% ou mesmo uma porcentagem mais alta, comparado com um nível inicial de magnésio antes da administração dele a um indivíduo. Quando desejado, as concentrações apropriadas para eliciar os efeitos da suplementação de magnésio, como aqui descrito, podem ser a partir de cerca de 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, vez o valor médio relatado. Quando desejado, a concentração fisiológica de magnésio selecionada é medida sob uma condição de jejum, por exemplo, sem ingerir alimentos por pelo menos cerca de 8 horas, 10 horas, 12 horas, 15 horas, 24 horas, ou mesmo mais tempo.

Adicionalmente, os compostos de magnésio podem ser distribuídos para o cérebro de um indivíduo por intermédio de uma bomba ou qual-

quer outro dispositivo apropriado para injeção. Tais dispositivos são conhecidos nessas técnicas e podem distribuir compostos diretamente para o cérebro ou indiretamente para o cérebro por intermédio da medula espinhal. A administração usando tais dispositivos, por exemplo, administração periespinal de etanercept, foi descrita anteriormente (vide Tobinick e Gross *J. Neuroinflammation* 5:2). Este exemplo é fornecido apenas com propósito ilustrativo e não pretende ser limitativo da presente invenção. A quantidade de magnésio distribuída para o cérebro pode ser tal que a concentração de magnésio no líquido cerebrospinal (CSF), $[Mg]_{CSF}$, seja aumentada em pelo menos 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30% ou mais. Quando desejado, $[Mg]_{CSF}$ podem aumentar até cerca de 0,60, 0,65, 0,70, 0,75, 0,80, 0,85, 0,95, 1,0, 1,05, 1,10, 1,15, 1,20, 1,25, 1,30, 1,35, 1,40, 1,45, ou 1,5 mM. De preferência, a concentração no líquido cerebrospinal ($[Mg]_{CSF}$) é aumentada em pelo menos 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 20%, 25% ou mais. Quando desejado, $[Mg]_{CSF}$ pode ser aumentada até cerca de 1,2 mM. A bomba ou dispositivo para injeção pode ser qualquer um conhecido nessas técnicas para distribuir um agente terapêutico para o cérebro.

O magnésio é um mineral essencial no corpo humano por causa dos seus papéis em inúmeras funções fisiológicas. Além disso, ele é reconhecido genericamente que pelo menos metadas das pessoas no mundo indutentativaizado não recebem magnésio suficiente a partir das suas dietas. Várias doenças, tais como diabetes e doença de Alzheimer, estão associadas ao *deficit* de magnésio. Portanto, há uma necessidade de suplementação de magnésio. A tolerância diária recomendada (RDA) para magnésio é 400 mg para adultos. Presumindo que as pessoas recebem 40-50% do magnésio requerido a partir da dieta, a quantidade recomendada de suplemento de magnésio tem sido genericamente a cerca de 200-250 mg por dia para adultos. Existem inúmeros compósitos de magnésio que têm sido usados como suplementos de magnésio. Estes compostos incluem óxido de magnésio, citrato de magnésio, sulfato de magnésio, cloreto de magnésio,

gliconato de magnésio, lactato de magnésio, pidolato de magnésio e diglicinato de magnésio, por exemplo. Pelo menos para propósito nutricional, a quantidade recomendada de suplementação de magnésio para a maioria dos suplementos de magnésio existentes no mercado é quase a mesma (isto é, cerca de 250 mg de magnésio por dia), independentemente da biodisponibilidade do composto de magnésio e da função renal do indivíduo para reter a quantidade do magnésio absorvida. Alguns fornecedores de suplementos de magnésio têm recomendado uma ingestão diária de magnésio mais alta para seus produtos, novamente, sem considerar a função renal de um indivíduo para retenção de magnésio. Similarmente ao *deficit* de magnésio, uma quantidade excessiva de magnésio no corpo (hipermagnesemia) também pode levar a problemas de saúde, tais como depressão neuromuscular, hipotensão, arritmias cardíacas e paralisia respiratória. Assim sendo, é importante fazer com que o nível sanguíneo de magnésio de uma pessoa permaneça dentro da faixa normal. Descreve-se aqui um método aprimorado para controlar o nível de magnésio até uma região específica da faixa normal. Em alguns aspectos da invenção, este método proporciona também vantagens específicas de saúde, tais como maior capacidade de memória, período de vida mais longo, menor depressão, e menos sintomas de distúrbios neurológicos, incluindo doença de Alzheimer (AD).

Além do uso nutricional, os suplementos de magnésio têm sido usados para tratar diabetes tipo 2. Em um estudo, pacientes diabéticos foram tratados com quase 1 g de magnésio diariamente, usando óxido de magnésio por 1 mês (de Lordes Lima, *et al.*, *Diabetes Care*. 21: 682-6 (1998)). O tratamento aumentou o nível sérico de magnésio dos pacientes em cerca de 10%, mas com apenas melhora mínima no controle metabólico. Em outro estudo, pacientes diabéticos foram tratados com 720 mg/dia de magnésio por três meses. Similarmente, os níveis sanguíneos de magnésio dos pacientes foram elevados em cerca de 10% em média (Eibl, *et al.*, *Diabetes Care*. 21: 2031-2 (1995)). Entretanto, o controle metabólico dos pacientes, avaliado por seus níveis de HbA1c, não teve qualquer melhora.

O íon magnésio foi relatado como sendo genericamente útil para

o tratamento de demência (por exemplo, patente nº US 4.985.256). Landfield e Morgan demonstraram que ratos jovens (9 meses de idade) e velhos (25 meses de idade) que foram alimentados com uma ração contendo 2% de óxido de magnésio por 8 dias demonstraram algum sinal de melhora da função cognitiva (Landfield e Morgan, *Brain Research*, 322:167-171 (1984)). Entretanto, o ganho em função cognitiva foi transiente e à custa de diarreia e perda de peso para os animais. De fato, o efeito colateral foi tão grave que os pesquisadores tiveram de usar um programa de alimentação alternante, colocando os animais sob uma dieta com alto teor de Mg por 4 dias, e em seguida, uma dieta normal por dois dias e depois de volta para a dieta com alto teor de Mg por mais 4 dias.

Os compostos de magnésio podem ser usados também para afetar a densidade óssea. Os distúrbios de densidade óssea, que incluem, porém sem limitações, osteoporose, podem ser tratados por suplementação de compostos de magnésio da presente invenção. Os indivíduos podem ser tratados para melhorar os efeitos da baixa densidade óssea ou como profilaxia contra densidade óssea perdida. A densidade óssea pode ser medida por qualquer meio conhecido nessas técnicas, incluindo, porém sem limitações, absorciometria de raios X de dupla energia (DEXA), ultrassom, tomografia computadorizada quantitativa, absorciometria por raios X com energia única, reprodução de imagens de ressonância magnética, medindo a largura metacárpica, e análise de raios X da mão.

Com mencionado acima, uma composição de contra-íon de magnésio e/ou um método aqui descrito são úteis para vários propósitos, tais como manter, intensificar, e/ou melhorar a saúde, nutrição, e/ou outra condição de um indivíduo, e/ou função cognitiva, de aprendizado e/ou memória, por exemplo. Os exemplos de uma condição de um indivíduo incluem deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando, doença de Alzheimer, doença de Huntingdon, autismo, esquizofrenia, declínio cognitivo como efeito secundário de doença ou tratamento médico (doença de HIV, câncer, quimioterapia), depressão, demência, transtorno de *deficit* de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, diabetes, doença cardi-

ovascular (por exemplo, hipertensão), glaucoma, enxaqueca, ansiedade, humor e hipertensão, meramente a título exemplificativo. A suplementação de magnésio pode ser útil também para manter, intensificar e/ou melhorar que podem resultar em perda de magnésio do corpo, incluindo, porém sem

5 limitações, alcoolismo, anorexia, bulimia, síndromes metabólicas, e nutrição deficiente. Qualquer uma dessas condições pode ser julgada ou definida como condição ou distúrbio fisiológico, psiquiátrico, psicológico ou médico, por exemplo. Genericamente, o termo "indivíduo" pode se referir a qualquer animal. Os exemplos desses animais incluem, porém sem limitações, ani-

10 mais poliquilotérmicos, animais homeotermos, mamíferos, mamíferos domesticados, primatas, seres humanos, e indivíduos ou pacientes para os quais uma composição vai ser administrada para propósitos experimentais, diagnósticos, nutricionais e/ou terapêuticos. Um indivíduo ou paciente pode ser um indivíduo ou paciente com saúde, humor, estado cognitivo e/ou nutri-

15 cional normal, bom, ou excelente, ou saúde, humor, estado cognitivo e/ou nutricional comprometido, incluindo com estado anormal, deficiente, danificado, doentio, prejudicado, doente, e/ou nutricionalmente deficiente. O indivíduo pode ser de qualquer idade, incluindo idade avançada.

Genericamente, o termo "cognição" pode se referir a um proces-

20 so para obter, organizar, entender, processar e/ou usar informações ou conhecimento. Genericamente, intensificar a função cognitiva refere-se a intensificar qualquer aspecto desse processo, o aprendizado, o desempenho de operações mentais, o armazenamento, recuperação e/ou uso de informações e/ou pensamentos, memória, e/ou prevenir um declínio do estado cog-

25 nitivo de um indivíduo, por exemplo. Vários testes padronizados podem ser usados para avaliar a cognição, função cognitiva e/ou estado cognitivo e podem ser usados para identificar um indivíduo que poderia ser conducente a, se beneficiar de e/ou necessitar, manutenção e/ou intensificação dos mesmos e/ou para monitorar um efeito do tratamento relacionado aos mesmos.

30 Os exemplos de testes apropriados incluem o miniexame do estado mental (Folstein, 1975), componentes da bateria de testes neuropsicológicos PROSPER (Houx, 2002), e/ou similares. História familiar, idade e/ou outros

fatores também podem ser usados para identificar um indivíduo que poderia ser conducente a, se beneficiar de e/ou necessitar, manutenção e/ou intensificação de cognição, função cognitiva e/ou estado cognitivo.

Genericamente, o termo "administração concomitante" com relação a dois ou mais objetos de administração para administração ao corpo de um indivíduo, tais como componentes, agentes, substâncias, materiais, composições, e/ou similares, refere-se à administração realizada usando doses e intervalos de tempo, de tal modo que os objetos de administração estejam presentes juntos dentro do corpo do indivíduo, ou em um local de ação no corpo do indivíduo, durante um intervalo de tempo menor do que as quantidades mínimas. O intervalo de tempo podem ser qualquer intervalo de tempo apropriado, tal como um intervalo apropriado de minutos, horas, dias, ou semanas, por exemplo. Os objetos de administração podem ser administrados juntos, tais como partes de uma única composição, por exemplo, ou de outra forma. Os objetos de administração pode ser administrados de forma substancialmente simultânea (tal como dentro de intervalo menor ou igual a cerca de 5 minutos, cerca de 3 minutos, ou cerca de 1 minuto, entre um e outro, por exemplo) ou dentro de um tempo curto entre um e outro (tal como dentro de um intervalo menor ou igual a cerca de 1 hora, 30 minutos, ou 10 minutos, ou dentro de mais do que cerca de 5 minutos até cerca de 1 hora, entre um e outro, por exemplo). Os objetos de administração assim administrados podem ser considerados como tendo sido administrados substancialmente na mesma hora. Os versados nessas técnicas devem ser capazes de determinar as doses e os intervalos de tempo apropriados para administração dos objetos de administração ao corpo de um indivíduo, de tal modo que eles estejam presentes em níveis mais do que mínimos dentro do corpo do indivíduo e/ou em concentrações eficazes dentro do corpo do indivíduo. Quando os objetos de administração são administrados concomitantemente ao corpo de um indivíduo, qualquer um destes objetos de administração pode estar em uma quantidade eficaz menor do que uma quantidade eficaz que poderia ser usada se administrados isoladamente. O termo "quantidade eficaz", que está aqui descrito adicionalmente, engloba esta

quantidade eficaz menor e a quantidade eficaz usual, e na realidade, qualquer quantidade que é eficaz para eliciar uma condição, efeito e/ou resposta específica. Assim sendo, uma dose de qualquer um desses objetos de administração concomitante pode ser menor do que aquela que poderia ser usada se ele fosse administrado isoladamente. Um ou mais efeitos de qualquer um desses objetos de administração podem ser aditivos ou sinérgicos. Qualquer um desses objetos de administração pode ser administrado mais do que uma vez.

Genericamente, o termo "quantidade eficaz" com relação a um agente ativo refere-se à quantidade do agente ativo suficiente para eliciar uma condição, efeito e/ou resposta biológica específica. A quantidade absoluta de um agente específico, que é eficaz desta maneira, pode variar dependendo de vários fatores, tais como o resultado biológico desejado, o agente em si, o indivíduo ou sua parte assestada, e/ou similares, por exemplo. Uma quantidade eficaz de um agente ativo pode ser administrada em uma única dose ou em múltiplas doses. Os exemplos de uma condição, efeito ou resposta biológica, que pode resultar de uma quantidade eficaz de um agente ativo incluem a manutenção e/ou melhora do desempenho de um indivíduo de uma tarefa que envolve ou está associada a uma função cognitiva, manutenção e/ou melhora do desempenho de um indivíduo's em um teste que mede algo relacionado ou associado à função cognitiva, a manutenção e/ou melhora (desaceleração, por exemplo) de uma taxa de declínio em função cognitiva, e/ou similares, por exemplo. Um componente pode ser aqui descrito como tendo pelo menos uma quantidade eficaz, ou pelo menos uma quantidade eficaz, tal como aquela associada a uma meta ou propósito específico, tal como aqui descrito.

Genericamente, o termo "magnésio elementar", como aqui utilizado com relação a um composto de contra-íon de magnésio aqui descrito, pode se referir a uma quantidade total de magnésio que está presente como íon livre e magnésio que está ligado a um ou mais contra-íons. Em geral, esse termo não é utilizado para se referir a magnésio que possa estar associado com um agente que não um composto de contra-íon de magnésio que

pode ser um componente de uma composição de contra-íon de magnésio (por exemplo, uma composição farmacêutica, uma composição de suplemento dietético, um produto alimentício suplementado com um composto de contra-íon de magnésio). Uma pequena quantidade de magnésio pode estar naturalmente presente ou associada de outra forma com esse agente. Por exemplo, um extrato de suco de fruta ou agente saporífero pode compreender uma quantidade de magnésio daquela naturalmente presente na fruta a partir da qual ele foi derivado. Genericamente, o termo "magnésio elementar", como utilizado com relação a um composto de contra-íon de magnésio não englobaria esse magnésio associado com o agente.

Como aqui utilizados, os termos "componente que compreende magnésio" (MCC) e "composto de contra-íon de magnésio" são utilizados de forma intercambiável, e eles são úteis para os propósitos aqui descritos, tais como manter, intensificar e/ou melhorar a saúde, nutrição, e/ou outra condição de um indivíduo, tais como deficiência de magnésio, diabetes, humor, transtorno de *deficit* de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, ansiedade, depressão e/ou enxaqueca, por exemplo, e/ou função cognitiva, de aprendizado, e/ou memória, tais como MCI e/ou AD, por exemplo.

Tal composição, tal como aquela apropriada para administração a um indivíduo, pode compreender pelo menos um componente que compreende magnésio (MCC). O MCC pode ser qualquer componente que compreende magnésio apropriado, tal como um componente que compreende magnésio adequadamente biodisponível. O MCC pode ser qualquer componente que compreende magnésio apropriado biologicamente aceitável. O MCC pode ser qualquer sal de magnésio com ácido orgânico apropriado, tal como um sal de magnésio de um ácido carboxílico de C2-C12 atóxico ou um sal de magnésio de um ácido sulfônico de C2-C12 atóxico, por exemplo. Meramente a título exemplificativo, o MCC pode ser um sal de aminoácido de um aminoácido, acetato de magnésio, ascorbato de magnésio, citrato de magnésio, gliconato de magnésio, lactato de magnésio, malato de magnésio, carboxilato de pirrolidona magnésio (pidilato de magnésio), taurato de magnésio, e/ou treonato de magnésio. Pelo menos um MCC pode estar presente

em pelo menos uma quantidade eficaz para manutenção, intensificação e/ou tratamento de saúde, nutrição e/ou outra condição de um indivíduo, e/ou função cognitiva, de aprendizado e/ou memória, tais como qualquer uma das condições ou funções aqui descritas, por exemplo.

5 Em uma modalidade, a composição da invenção pode compreender pelo menos um composto de contra-íon de magnésio. Em outras modalidades, a invenção inclui composições que compreendem 2, 3, 4, 5, ou mais compostos de contra-íons de magnésio. Em outras modalidades, o contra-íon ou contra-íons devem ser orgânicos (por exemplo, treonato). Em
10 ainda outras modalidades, o composto de contra-íon de magnésio tem uma solubilidade na faixa de solubilidade que se distingue de gluconato/lactato etc. de Mg. Em ainda outras modalidades, a % ponderal de magnésio em um composto de contra-íon de magnésio é 6% ou maior. Em outras modalidades, a % ponderal de magnésio em um composto de contra-íon de magnésio
15 é 4%, 5%, 6%, 7%, 8% ou maior. Em algumas modalidades, o contra-íon orgânico deve ter 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 ou mais átomos de carbono. Em outras modalidades, o composto de contra-íon de magnésio da presente invenção é substancialmente isento de efeito laxante.

 Em uma modalidade, a composição em questão que contém
20 magnésio se distingue pelo fato de que: (a) o magnésio contido nela tem uma porcentagem em peso de pelo menos cerca de 8%; (b) um contra-íon compreende pelo menos dois grupos hidroxila; (c) a composição tem uma solubilidade de pelo menos 20 mg/mL; e (d) a composição apresenta um valor de pH entre cerca de 6 e 8,5 quando dissolvida em água. Um exemplo
25 de composição que contém magnésio que tem estas características é uma que compreende treonato de magnésio.

 O composto de contra-íon de magnésio pode ser qualquer composição adequadamente biodisponível. O composto de contra-íon de magnésio pode ser qualquer composto de contra-íon de magnésio biologicamente aceitável apropriado. Pelo menos um composto de contra-íon de magnésio
30 pode estar presente em pelo menos uma quantidade eficaz para manutenção, intensificação e/ou tratamento de saúde, nutrição e/ou outra condi-

ção de um indivíduo, e/ou função cognitiva, de aprendizado e/ou memória, tal como qualquer uma das condições ou funções aqui descritas, por exemplo.

Uma composição de contra-íon de magnésio pode conter também uma combinação de grupos de pares de contra-íons de magnésio. Uma composição de contra-íon de magnésio apropriada para a administração a um indivíduo pode compreender também um agente para intensificar a biodisponibilidade do magnésio associado com um composto de contra-íon de magnésio, ou uma combinação deles, como aqui descrito adicionalmente.

Os exemplos de substâncias que podem afetar a biodisponibilidade incluem aqueles que afetam a absorção, excreção, secreção, retenção de magnésio e/ou contra-íon, e outros parâmetros fisiologicamente relevantes. Por exemplo, uma composição de contra-íon de magnésio pode compreender vitamina D3 que pode reduzir a excreção de magnésio pelo rim (Ritchie *et al.*, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 280:868-78 (2001); Montgomery *et al.*, *J. Anim. Sci.*, 82:2742 (2004)), e/ou vitamina E que foi sugerida para promover a entrada de magnésio do sangue em tecidos (Barbagallo, *et al.*, *Hipertensão*, 34:1002-6 (1999); Paolisso *et al.*, *Clin. Endocrinol. Metab.*, 85:109-15 (2000)). Os versados nessas técnicas devem reconhecer que estas duas vitaminas são fornecidas apenas como exemplos das substâncias contempladas pela presente invenção e tais substâncias não estão limitadas a estas duas vitaminas.

A biodisponibilidade de um composto de contra-íon de magnésio pode ser avaliada ou medida de qualquer maneira apropriada ou usando qualquer critério apropriado. Genericamente, a biodisponibilidade de um composto de contra-íon de magnésio pode ser avaliada baseado na taxa de absorção de magnésio e/ou capacidade de carga de magnésio. A taxa de absorção de magnésio refere-se à fração da ingestão de magnésio de um indivíduo que é absorvida pelo corpo do indivíduo. Em alguns casos, a taxa de absorção de magnésio isoladamente pode não ser suficiente para avaliar a biodisponibilidade de um composto de contra-íon de magnésio. Por exemplo, para um dado composto de contra-íon de magnésio, a taxa de absorção

de magnésio pode permanecer relativamente constante apenas quando a composição de contra-íon de magnésio é administrada em uma dosagem relativamente baixa.

Ainda a título exemplificativo, para uma dada ingestão de um
5 dado composto de contra-íon de magnésio, pode haver um limite superior da quantidade de magnésio que pode ser absorvida a partir da composição de contra-íon de magnésio pelo corpo do indivíduo dentro de um certo período, tal como um período de 24 horas. Nesse caso, à medida que a dosagem da composição de contra-íon de magnésio aumenta até um certo nível, a taxa
10 de absorção de magnésio associado com a composição de contra-íon de magnésio pode declinar, possivelmente de forma significativa. Assim sendo, para uma dada composição de contra-íon de magnésio, a taxa de absorção de magnésio pode ser apropriada quando a composição de contra-íon de magnésio é administrada em uma dosagem relativamente baixa, mas pode
15 ser mais baixa, menos apropriada e/ou inadequada em uma dosagem relativamente alta.

Um limite superior do tipo descrito há pouco pode ser referido como uma capacidade de carga de magnésio, que pode ser usada para avaliar a biodisponibilidade de um composto de contra-íon de magnésio. Quando um composto de contra-íon de magnésio, que está associado a uma capacidade de carga de magnésio relativamente baixa, é administrado a um
20 indivíduo em uma dosagem relativamente alta, em um caso, em comparação com uma dosagem relativamente baixa, em outro caso, a taxa de absorção de magnésio em um caso pode ser relativamente mais deficiente do que
25 uma taxa de absorção de magnésio em outro caso. Assim sendo, para um composto de contra-íon de magnésio associado a uma capacidade de carga relativamente baixa, um simples aumento na dosagem pode ser insuficientemente eficaz ou ineficaz para uma ingestão, fornecimento e/ou suplementação de magnésio.

30 Um composto de contra-íon de magnésio que é adequadamente biodisponível pode estar associado a uma taxa de absorção de magnésio apropriada ou boa e/ou uma capacidade de carga de magnésio apropriada

ou boa. Um composto de contra-íon de magnésio com biodisponibilidade apropriada pode ser fornecido para um indivíduo em uma dosagem relativamente alta, a fim de fornecer magnésio para um indivíduo com velocidade apropriada. Em algumas modalidades, um composto de contra-íon de magnésio que tem uma concentração relativamente alta em um meio aquoso ou solvente pode ser administrado por via oral a um indivíduo para distribuição relativamente rápida de magnésio para o indivíduo. A distribuição rápida de magnésio pode ser importante em alguns casos, tais como no tratamento de um indivíduo que tem um grave *deficit* de magnésio e/ou outra condição suscetível ao tratamento desta maneira, por exemplo. A administração oral pode ser relativamente mais conveniente do que injeção intravenosa nesses casos e/ou outros casos.

A quantidade de magnésio que pode ser absorvida por um indivíduo, ou a taxa de absorção de magnésio por um indivíduo pode variar de indivíduo para indivíduo, baseado em uma série de fatores. Os exemplos desses fatores incluem taxa metabólica, função renal, saúde geral, e/ou outros fatores concernentes ao indivíduo, e uma propriedade ou natureza do composto de contra-íon de magnésio em si, tal como o contra-íon, qualquer agente intensificador, seu veículo ou método de administração, e/ou outros fatores concernentes ao composto de contra-íon de magnésio e/ou sua administração a um indivíduo.

Determinar uma dosagem apropriada para administração de um composto de contra-íon de magnésio a um indivíduo pode levar em consideração uma série de fatores, tais como aqueles mencionados há pouco, por exemplo, qualquer efeito colateral potencial ou real e/ou um propósito da administração da composição de contra-íon de magnésio, tal como um propósito nutricional ou profilático, um propósito de manutenção ou infensificação da cognição, um propósito de tratamento de doença ou condição patológica, e/ou outro propósito para o qual a composição de contra-íon de magnésio pode ser administrada a um indivíduo. Determinar uma dosagem apropriada pode levar em consideração qualquer um desses fatores, quaisquer outros fatores, quaisquer efeitos colaterais, modelagem do estudo ani-

mal, modelagem do estudo humano, modelagem de estudo clínico, modelagem de estudo de fármaco, e qualquer restante entre eles.

Contempla-se que uma dosagem para administração de um composto de contra-íon de magnésio a um indivíduo pode ser entre cerca de 1,5 mg/kg de peso corporal/dia e cerca de 18 mg/kg de peso corporal/dia. Por exemplo, contempla-se que uma dosagem para administração de um composto de contra-íon de magnésio a um indivíduo pode ser entre cerca de 1,5 mg/kg de peso corporal/dia e cerca de 9 mg/kg de peso corporal/dia de magnésio elementar associado com o pelo menos um composto de contra-íon de magnésio para propósitos nutricionais e/ou profiláticos; pode ser cerca de 6 mg/kg de peso corporal/dia a cerca de 18 mg/kg de peso corporal/dia de magnésio elementar associado com o pelo menos um contra-íon para propósitos de manutenção e/ou intensificação da cognição; e pode ser cerca de 9 mg/kg de peso corporal/dia a cerca de 18 mg/kg de peso corporal/dia de magnésio elementar associado com o pelo menos um contra-íon para propósitos de tratamento de doença e/ou condição patológica, tal como o tratamento de deficiência de magnésio, MCI, AD, transtorno de *deficit* de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, depressão, transtorno de ansiedade, transtorno de humor e/ou hipertensão, por exemplo. Essas quantidades podem ser apropriadas para um indivíduo humano, por exemplo.

Como mencionado acima, tal dosagem pode ser determinada, modificada e/ou refinada baseado em qualquer fator apropriado, tais como resultados de ensaios clínicos concernentes aos indivíduos, por exemplo, indivíduos humanos. Em algumas modalidades, uma dosagem apropriada pode ser determinada, modificada e/ou refinada baseado em uma determinação de uma dosagem apropriada para um modelo animal apropriado, baseado em estudos ou testes experimentais, por exemplo, e conversão dessa dosagem animal apropriada em uma dosagem humana apropriada, baseado em fatores de conversão apropriados, tais como quaisquer fatores de conversão apropriados estabelecidos, por exemplo. Ainda a título exemplificativo, contempla-se que qualquer dosagem humana apropriada pode ser ainda

determinada, modificada e/ou refinada, baseado em ensaios clínicos que envolvem indivíduos humanos, por exemplo.

Como mencionado acima, uma composição de contra-íon de magnésio apropriada para administração a um indivíduo pode compreender também pelo menos um agente ("agente intensificador") para intensificar a biodisponibilidade de magnésio associada com um contra-íon da composição ou mais do que um contra-íon da composição. O agente intensificador pode ser qualquer agente apropriado, tal como um agente biologicamente aceitável. Meramente a título exemplificativo, uma razão ponderal de uma quantidade de magnésio elementar associado com o pelo menos um contra-íon e uma quantidade do pelo menos um agente intensificador pode ser entre cerca de 1 to cerca de 5 (~1:~5) e cerca de 1 a cerca de 3000 (~1:~3000); ou entre cerca de 1 a cerca de 10 (~1:~10) e cerca de 1 a cerca de 1.000 (~1:~1.000); ou entre cerca de 1 e cerca de 200 (~1:~200) a cerca de 1 a cerca de 3000 (~1:~3000). Neste caso, tal razão ponderal refere-se a uma razão de um peso total de um único composto de contra-íon de magnésio, caso apenas um esteja presente na composição, ou de múltiplos compostos de contra-íons de magnésio, caso mais do que um estejam presentes na composição, para um peso total de um único agente intensificador, caso apenas um esteja presente na composição, ou de múltiplos agentes intensificadores, caso mais do que um estejam presentes na composição.

Meramente a título exemplificativo, uma composição que compreende magnésio, apropriada para administração a um indivíduo, pode compreender pelo menos um MCC e pelo menos um componente de leite não-acidificado suficiente para intensificar a biodisponibilidade de magnésio associado com pelo menos um MCC. Um componente ou vários componentes de leite de mamífero não-acidificado que não água, tal como lactose, um ácido graxo ou gordura do leite, e/ou outro componente orgânico dele, por exemplo, podem intensificar a biodisponibilidade do magnésio associado com um MCC ou mais do que um MCC. A fonte de leite de mamífero desse componente ou desses componentes pode ser aquela que tem sua quantidade original de gordura de leite, tal como uma quantidade de ocorrência

natural de gordura de leite, por exemplo, ou uma quantidade de gordura do leite que é menor do que sua quantidade original de gordura do leite, tal como um a quantidade manipulada ou artificialmente reduzida de gordura do leite. Consequentemente, um componente, tal como um componente ácido graxo, por exemplo, pode ser mais ou menos graxo e/ou ter um comprimento de cadeia maior ou menor, por exemplo. A fonte de leite de mamífero desse componente ou desses componentes pode ser não-acidificada, como acidificação, tal como aquela associada à fermentação, por exemplo, pode alterar o componente ou os componentes, de tal modo que a biodisponibilidade do magnésio não seja intensificada ou não suficientemente intensificada pela presença do componente ou componentes na composição. Meramente a título exemplificativo, embora a lactose possa ser um agente intensificador apropriado, o ácido láctico, um produto da acidificação da lactose, pode não ser. Meramente a título exemplificativo, uma fonte de leite de mamífero não-acidificada apropriada pode ter um pH entre cerca de 5,7 e cerca de 7,2.

Meramente a título exemplificativo, uma composição que compreende magnésio, apropriada para administração a um indivíduo pode compreender pelo menos um MCC e lactose, sendo que esta última pode atuar como um agente intensificador. Nesse caso, a razão ponderal de uma quantidade de magnésio elementar associado com o pelo menos um MCC para uma quantidade de lactose pode ser entre cerca de 1 para cerca de 10 (~1:~10) e cerca de 1 para cerca de 1000 (~1:~1000). Além disso, meramente a título exemplificativo, uma composição que compreende magnésio, apropriada para administração a um indivíduo pode compreender pelo menos um MCC e os componentes orgânicos completos, excluindo água, de leite não-acidificado, sendo que este último pode compreender um agente intensificador ou agentes intensificadores. Nesse caso, a razão ponderal de magnésio elementar associado com o pelo menos um MCC para o agente ou agentes intensificadores pode ser entre cerca de 1 para cerca de 200 (~1:~200) e cerca de 1 para cerca de 3.000 (~1:~3.000).

Como descrito acima, uma composição que compreende magnésio, apropriada para administração a um indivíduo, pode compreender

pelo menos um MCC, tal como gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e/ou citrato de magnésio, por exemplo. Cada um entre gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio está disponível comercialmente e é relativamente palatável. Um MCC, ou composição que compreende o mesmo, que é tolerável ou relativamente palatável, pode ser usada em um alimento, uma bebida e/ou outro tipo de veículo consumível, que pode estar associado com uma dieta de um indivíduo, tal como um indivíduo humano, por exemplo. Assim sendo, o indivíduo pode ser capaz de fornecer e/ou suplementar uma ingestão normal de magnésio por intermédio de uma dieta que compreende pelo menos um veículo consumível que compreende magnésio, ao invés de por intermédio um meio relativamente não-dietético, tal como pelo menos uma pílula, cápsula e/ou comprimido que contém magnésio, por exemplo. Naturalmente, um indivíduo pode empregar um ou mais do que um meio de ingestão, fornecimento e/ou suplementação de magnésio.

Como também descrito acima, uma composição que compreende magnésio, apropriada para administração a um indivíduo, pode compreender mais do que um MCC, ou uma combinação de MCCs. Meramente a título exemplificativo, tal composição que compreende magnésio pode compreender pelo menos dois MCCs, tal como pelo menos dois MCCs entre qualquer um dos MCCs aqui descritos. Além disso, meramente a título exemplificativo, uma composição que compreende magnésio pode compreender pelo menos dois MCCs selecionados entre gliconato de magnésio, lactato de magnésio, citrato de magnésio, e malato de magnésio, por exemplo, ou selecionados entre gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio, por exemplo, tal como todos três entre selecionados entre gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio, por exemplo. Ainda além disso, meramente a título exemplificativo, uma composição que compreende magnésio pode compreender lactato de magnésio em uma quantidade entre cerca de 5 e cerca de 50%, tal como cerca de 25%, por exemplo; citrato de magnésio em uma quantidade entre cerca de 5 e cerca de 50%, tal como cerca de 25%, por exemplo; e/ou gliconato de magnésio em uma quantidade entre 10 e cerca de 70%, tal como cerca de

50%, por exemplo, onde todas porcentagens são porcentagens em peso em relação ao peso total de qualquer um destes três MCCs presentes. Qualquer uma dessas composições pode compreender também qualquer agente intensificador apropriado, tal como qualquer um aqui descrito, por exemplo.

5 O lactato de magnésio está associado com um teor relativamente bom de magnésio de cerca de 12 por cento em peso. O citrato de citrato de magnésio está associado com um teor relativamente bom de magnésio de cerca de 18,46 por cento em peso. Embora o gliconato de magnésio esteja associado com um teor de magnésio comparativamente mais baixo de
10 cerca de 5,86 por cento em peso, e palatabilidade comparativamente mais baixa, particularmente em alta concentração, ele está associado também a uma solubilidade em água ou um meio aquoso, que é comparativamente melhor do que aquela associada ao lactato de magnésio ou citrato de magnésio. Como descrito acima, uma composição que compreende magnésio
15 pode compreender pelo menos dois MCCs selecionados entre gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio, tais como todos estes três MCCs, por exemplo.

 Uma composição de contra-íon de magnésio que compreende mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode ser apropriada,
20 benéfica ou desejável em relação a uma composição de contra-íon de magnésio que compreende um único composto de contra-íon de magnésio. Uma combinação de mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode ser apropriada, benéfica ou desejável em termos de inúmeras características ou fatores, tais como teor de magnésio, solubilidade, palatabilidade, biodisponibilidade de magnésio, aceitabilidade biológica e/ou similares, por exemplo.
25 Uma combinação de mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode ser apropriada, benéfica ou desejável em termos de palatabilidade. Uma combinação de mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode ser apropriada, benéfica ou desejável em termos de manter e/ou
30 intensificar um atributo ou atributos de um composto de contra-íon de magnésio ou vários compostos de contra-íons de magnésio.

 Em termos de solubilidade, um composto de contra-íon de mag-

nésio, ou mais do que um composto de contra-íon de magnésio, pode ter uma solubilidade em água de pelo menos cerca de 20 mM, tal como pelo menos cerca de 50 mM ou pelo menos cerca de 80 mM, meramente a título exemplificativo. Em termos de teor de magnésio, um composto de contra-íon de magnésio ou mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode ter um teor de magnésio de pelo menos cerca de 8 por cento em peso. Em termos de biodisponibilidade, um composto de contra-íon de magnésio ou mais do que um composto de contra-íon de magnésio pode estar associado a uma biodisponibilidade que é pelo menos comparável àquela associada ao cloreto de magnésio, caso não mais alta.

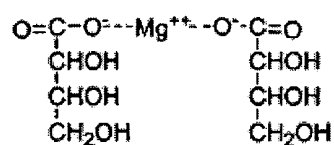
Uma composição que compreende magnésio que compreende pelo menos um MCC e um agente intensificador pode estar associada a uma biodisponibilidade de magnésio apropriada. Tal composição pode estar associada a uma taxa de taxa de absorção apropriada de magnésio. A título exemplificativo, quando ratos foram alimentados com diferentes composições que compreendem gliconato de magnésio, em uma concentração 12 mM, em diferentes meios, a saber, leite desnatado, água compreendendo 5 por cento em peso de lactose, leite preparado a partir de leite em pó e água, nata de leite e água, e um meio de controle de água, respectivamente, cada uma das quatro composições excederam a performance da composição de controle em termos de taxa de absorção de magnésio. Além disso, como representado graficamente na figura 2 e descrito no Exemplo 3, cada uma das composições que compreendem um meio, que não o meio de controle, ganhou da composição que compreende o meio de controle, água, em termos da intensificação da taxa percentual de absorção de magnésio. Ainda a título exemplificativo, quando ratos foram alimentados com uma composição que compreende uma combinação de gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio, e leite desnatado, a composição estaca associada a uma taxa de absorção de magnésio apropriada, uma que foi mais alta do que aquela associada a uma composição de controle que compreende a mesma combinação de gliconato de magnésio, lactato de magnésio, e citrato de magnésio, mas água no lugar de leite desnatado, como re-

presentado graficamente na figura 3 e descrito no Exemplo 4. Ainda a título exemplificativo, quando ratos foram alimentados com composições que compreendem gliconato de magnésio, em várias dosagens de magnésio relativamente baixas, e leite desnatado ou água compreendendo 5 por cento em peso de lactose, as composições estavam associadas a taxas de absorção de magnésio apropriadas, como representado graficamente na figura 4 e descrito no Exemplo 5.

Uma composição de contra-íon de magnésio que compreende pelo menos um contra-íon e um agente intensificador, pode estar associada a uma capacidade de carga apropriada de magnésio, tal como uma capacidade de carga relativamente alta, por exemplo. Tal composição pode estar associada a uma taxa de absorção de magnésio relativamente alta, por exemplo, em uma faixa de dosagem relativamente ampla. Quando essa composição é administrada a um indivíduo em uma dosagem relativamente alta, o indivíduo pode ser capaz de absorver uma quantidade apropriada de magnésio, tal como uma quantidade nutricional, terapêutica e/ou profilática, ou pode ser capaz de assim fazê-lo em um período relativamente curto. Em comparação, quando uma composição associada com uma baixa capacidade de carga de magnésio é administrada a um indivíduo em uma dose relativamente alta, o indivíduo pode não ser capaz de absorver uma quantidade apropriada de magnésio, tal como uma quantidade nutricional, terapêutica e/ou profilática, ou pode não ser capaz de assim fazê-lo em um período relativamente curto. Isto é, no ultimo caso, simplesmente administrar uma dose grande de uma composição associada com uma baixa capacidade de carga de magnésio a um indivíduo pode não ser suficiente ou eficaz para um propósito específico. A título exemplificativo, quando ratos foram alimentados com composições que compreendem gliconato de magnésio, em uma dosagem relativamente baixa de magnésio e em uma dosagem relativamente alta de magnésio, e leite desnatado ou água compreendendo 5 por cento em peso de lactose, as composições com dosagens mais baixas estavam associadas a taxas de absorção apropriadas de magnésio e as composições com dosagens mais altas estavam associadas a taxas de taxa de absorção

apropriadas de magnésio que eram adequadamente perto daquelas associadas às composições com dosagens mais baixas, como representado graficamente na figura 4 e descrito no Exemplo 5. Estas composições que compreendem gliconato de magnésio estavam assim associadas com capacidades de carga de magnésio apropriadas. Uma composição que compreende gluconato de magnésio e leite, lactose, ou outro agente intensificador, quando administrada em alta dosagem, podem assim ser apropriadas para ingestão, fornecimento e/ou suplementação rápida e/ou eficiente. A título comparativo, quando ratos foram alimentados com composições que compreendem cloreto de magnésio, em uma dosagem de magnésio relativamente baixa e em uma dosagem de magnésio relativamente alta, e água, as composições com dosagens mais baixas estavam associadas a taxas de absorção de magnésio apropriadas, porém mais baixas, e as composições com dosagens mais altas de magnésio estavam associadas a taxas de absorção de magnésio que eram menos desejáveis, como representado graficamente na figura 4 e descrito no Exemplo 5. Assim sendo, embora o cloreto de magnésio estivesse anteriormente associado a uma biodisponibilidade muito boa, aquele nível de biodisponibilidade pode estar associado a uma dosagem relativamente baixa, e em uma dosagem relativamente alta. Uma composição que compreende cloreto de magnésio e água, quando administrada em alta dosagem, pode assim ser menos desejável ou apropriada, e talvez inapropriada, para ingestão, fornecimento e/ou suplementação rápida e/ou eficiente de magnésio.

Um composto de contra-íon de magnésio apropriado para administração a um indivíduo pode compreender treonato de magnésio, onde cada cátion magnésio está associado com dois ânions treonato, como ilustrada fórmula fornecida abaixo.



Tal composição pode ser profilaticamente e/ou terapeuticamente apropriada ou benéfica. O treonato é um produto metabólico natural da vita-

mina C ou ácido ascórbico, que pode estar associado à não-toxicidade em animais (Thomas *et al.*, *Food Chem.* 17, 79-83 (1985)) e um benefício biológico, tal como a promoção de ingestão de vitamin C, em animais (Verlangieri *et al.*, *Life Sci.* 48,2275-2281 (1991)).

5 O treonato de magnésio pode estar associado a uma biodisponibilidade apropriada de magnésio em relação a um indivíduo. Assim sendo, uma composição de contra-íon de magnésio apropriada para administração a um indivíduo pode compreender treonato de magnésio, e opcionalmente, um agente intensificador. A título exemplificativo, quando ratos foram alimentados com uma composição relativamente diluída que compreende treonato de magnésio e água, em uma dosagem relativamente baixa, a composição estava associada a uma taxa de absorção de magnésio apropriada, como representado graficamente na figura 5 e descrito no Exemplo 6. Como ilustrado, a taxa de absorção de magnésio desta composição era similar àquela associada a uma composição testada similarmente, a qual compreende cloreto de magnésio e água, em uma dosagem relativamente baixa, como representado graficamente na figura 5 e descrito no Exemplo 6. Quando ratos foram alimentados com uma composição que compreende treonato de magnésio e água, em uma dosagem mais alta, a composição ainda estava associada a uma taxa de absorção apropriada, como representado graficamente na figura 5 e descrito no Exemplo 6. Como ilustrado, a taxa de absorção de magnésio desta composição era significativamente mais alta do que aquela associada a uma composição testada similarmente, a qual compreende cloreto de magnésio e água, em uma dosagem mais alta, como representado graficamente na figura 5 e descrito no Exemplo 6. Uma composição, que compreende treonato de magnésio, pode estar, assim, associada a uma capacidade de carga de magnésio apropriada, e pode ser apropriada para ingestão, fornecimento e/ou suplementação rápida e/ou eficiente de magnésio.

30 O treonato de magnésio pode ser mais apropriado ou desejável para administração oral a um indivíduo do que alguns outros compostos de contra-íons de magnésio, tais como vários compostos inorgânicos de magnésio e vários quelatos de magnésio. A administração oral de vários com-

postos inorgânicos de magnésio, tais como cloreto de magnésio e sulfato de magnésio, por exemplo, em altas dosagens, pode contribuir ou levar a diarreia, um efeito laxante e/ou similares. Tendo em vista o efeito laxante de sulfato de magnésio sobre o sistema digestivo, o sulfato de magnésio pode ser

5 administrado por injeção intravenosa com propósitos não laxativos, para evitar o sistema digestivo completamente. Além disso, a administração oral de vários quelatos de magnésio, tal como diglicinato de magnésio, pode ser complicada por preocupações de alcalinidade e/ou palatabilidade. Um quelato de magnésio pode compreender um íon magnésio associado com uma

10 molécula de aminoácido ou duas moléculas de aminoácido e pode estar associado a uma biodisponibilidade relativamente alta. Um quelato de magnésio pode ser altamente alcalino em um pH 10 ou mais, quando dissolvido em água. Um quelato de magnésio pode estar associado a um odor ou sabor tal como aquele associado com peixe putrefato, talvez refletindo que seus grupos amina estão relativamente livres, ao contrário de estarem ligados de

15 forma estável em relação ao magnésio. Tendo em vista preocupações de alcalinidade, sensoriais e/ou de palatabilidade que podem estar associadas a um quelato de magnésio, tais compostos podem não ser os mais apropriados para ingestão, fornecimento e/ou suplementação de magnésio por intermédio de um veículo consumível ou administração oral.

20

O treonato de magnésio não apresenta os desafios que podem estar associados a vários compostos inorgânicos de magnésio e vários quelatos de magnésio. Uma composição que compreende treonato de magnésio demonstrou ter uma capacidade de carga de magnésio mais apropriada do

25 que uma composição que compreende cloreto de magnésio, como descrito com relação à figura 5 e Exemplo 6. Resumidamente, ratos machos adultos que foram alimentados com uma solução de treonato de magnésio que tem uma concentração de treonato de magnésio 48 mM durante um período de três meses, para uma dosagem média de magnésio de 40 mg/kg de peso

30 corporal/dia, não apresentaram sinais de diarreia. Além disso, quando ratos foram expostos a uma dieta que inclui uma composição de contra-íon de magnésio de treonato de magnésio em água, sua concentração sérica de

magnésio foi maior do que aquela associada a ratos que foram expostos a uma dieta que inclui uma entre duas outras composições de contra-íons de magnésio, ou uma dieta que inclui água desmineralizada, como representado graficamente na figura 6 e descrito no Exemplo 7. Um composto de contra-íon de magnésio suficiente para produzir uma concentração relativa alta de magnésio no sangue (por exemplo, treonato de magnésio) pode ser útil em uma série de aplicações, tal como uma aplicação terapêutica, por exemplo.

O treonato de magnésio pode ser apropriado para ingestão, fornecimento e/ou suplementação relativamente rápida, como pode ser apropriado ou benéfico para qualquer uma entre uma série de aplicações, tal como uma aplicação nutricional ou profilática, e/ou aplicação terapêutica. O treonato de magnésio pode ser um veículo apropriado ou benéfico para aplicação de ingestão, fornecimento e/ou suplementação de magnésio, como qualquer uma que pode ser realizada por intermédio de um veículo dietético ou um veículo consumível, tal como um alimento fortificado com magnésio e/ou uma bebida fortificada com magnésio, por exemplo.

Um composto de contra-íon de magnésio apropriado para administração a um indivíduo pode ser útil em aplicações nutricionais e/ou aplicações terapêuticas. Uma aplicação nutricional pode se referir a uma aplicação apropriada para afastar e/ou prevenir condição patológica e/ou doença associada a *deficit* de magnésio e/ou sujeita a tratamento com magnésio, tais como doença de Alzheimer (AD), MCI e/ou diabetes. Uma aplicação nutricional pode se referir a uma aplicação apropriada para manter e/ou intensificar uma função fisiológica, tal como uma função fisiológica em um estado considerado normal. Um nível de função cognitiva, tal como função de aprendizado ou memória, por exemplo, de um ser humano sadio, pode ser mantido e/ou intensificado administrando uma composição de contra-íon de magnésio apropriada. Uma aplicação terapêutica inclui, porém sem limitações, tratar condição patológica e/ou doença associada a *deficit* de magnésio e/ou sujeita a tratamento com magnésio, tal como doença de Alzheimer (AD), MCI, ALS, doença de Parkinson, diabetes, e/ou hipertensão.

Um composto de contra-íon de magnésio, tal como treonato de magnésio, e/ou uma composição que compreende um ou mais compostos de contra-íons de magnésio, pode ser suficiente para pelo menos manter e/ou intensificar função cognitiva. Nessa composição, uma quantidade de magnésio, ou uma quantidade eficaz do mesmo, associada com pelo menos um composto de contra-íon de magnésio pode ser suficiente para qualquer função apropriada aqui descrita. Por exemplo, uma concentração de magnésio elementar associada com pelo menos um contra-íon de tal composição na forma de líquido (por exemplo, solução aquosa) pode ser entre cerca de 5 mg/L e cerca de 12 g/L, tal como entre cerca de 50 mg/L e cerca de 12 g/L, por exemplo.

Um composto de contra-íon de magnésio, tal como treonato de magnésio e/ou uma composição que compreende um ou mais contra-íons, pode ser suficiente para tratar MCI, doença de Alzheimer (AD) e/ou qualquer outra enfermidade ou doença. Nessa composição, uma quantidade de magnésio, ou uma quantidade eficaz do mesmo, associada com pelo menos um componente de contra-íon de magnésio, pode ser suficiente para qualquer função apropriada aqui descrita. Por exemplo, uma concentração de magnésio elementar associada com pelo menos um contra-íon dessa composição na forma de líquido (por exemplo, uma solução aquosa), pode ser entre cerca de 5 mg/L e cerca de 12 g/L, tal como entre cerca de 50 mg/L e cerca de 12 g/L, por exemplo.

Um indivíduo afligido com doença de Alzheimer (AD) pode ter dificuldade para conduzir uma tarefa, tal como falar, entender, escrever, ler, namorar, beber, ou comer, por exemplo, seja com ou sem auxílio. Até agora, a doença de Alzheimer (AD) foi considerada uma doença incurável que tipicamente fica pior no decorrer do tempo. Vários fármacos têm sido usados para tratar AD foram desenhados para desacelerar sua progressão. Alguns destes fármacos foram associados a vários efeitos colaterais, alguns dos quais podendo ser significativos ou sérios. Um indivíduo afligido com MCI pode experimentar esquecimento que pode afetar a vida diária. Até agora, nenhum tratamento está disponível especificamente para MCI, que pode

progredir para dar AD. Vários fármacos que têm sido usados para tratar AD podem não ser apropriados para tratar a doença mais branda, MCI, por causa dos efeitos colaterais associados. Um composto de contra-íon de magnésio, tal como treonato de magnésio, por exemplo, e/ou composição que compreende um ou mais compostos de contra-íons de magnésio, pode ser suficiente para qualquer propósito aqui descrito, tal como tratar AD e/ou MCI e/ou melhorar um sintoma associado a elas, por exemplo, e ao mesmo tempo, sem gerar um efeito colateral indesejável de importância.

Em algumas modalidades, os compostos de contra-íons de magnésio da presente invenção podem ser administrados a um indivíduo para lidar com função cognitiva, seja nutricional ou profilaticamente ou terapeuticamente, de qualquer maneira apropriada. Como representado graficamente na figura 7 e descrito no Exemplo 8, camundongos afligidos com AD alimentados com uma dieta fortificada com magnésio durante mais de um mês demonstraram ter melhorado memória espacial de curto prazo e capacidade de aprendizado, em relação a camundongos afligidos com AD alimentados com uma dieta normal.

Um composto de contra-íon de magnésio aqui descrito pode ser administrado a um indivíduo, esteja ele ou não afligido com declínio, deficiência e/ou enfraquecimento cognitivo para lidar com função cognitiva, seja nutricional ou profilaticamente ou terapeuticamente, de qualquer maneira apropriada. Por exemplo, tais compostos podem ser administrados a um indivíduo relativamente jovem e/ou sadio. Um composto de contra-íon de magnésio aqui descrito pode ser administrado a um indivíduo para atingir seu propósito, tal como lidar com função cognitiva de qualquer maneira apropriada, em um período relativamente curto. Como representado graficamente na figura 8 e descrito no Exemplo 9, ratos jovens, nenhum dos quais associado com declínio, deficiência e/ou enfraquecimento cognitivo, alimentados com uma dieta fortificada com magnésio, no decorrer do tempo demonstraram ter melhorado acentuadamente no decorrer do tempo em termos de intensificação de memória espacial de trabalho e aprendizado. Em contraste, os ratos alimentados com uma dieta normal no decorrer do tempo

demonstraram genericamente não ter melhorado desta maneira no decorrer do tempo. Além disso, os ratos que apresentaram melhora acentuada assim o fizeram durante um período menor do que duas semanas.

Contempla-se que um composto de contra-íon de magnésio aqui descrito pode ser administrado a um indivíduo para conseguir um efeito apropriado ou benéfico, tal como um efeito nutricional, profilático e/ou terapêutico, por exemplo, como pode ser útil para lidar com função cognitiva, por exemplo, de qualquer maneira apropriada. Em algumas modalidades, um composto de contra-íon de magnésio da presente invenção pode ser administrado a um indivíduo humano suscetível ou afligido com MCI e/ou doença de Alzheimer (AD) para obter um efeito apropriado ou benéfico. Em outras modalidades, um composto de contra-íon de magnésio, ou uma composição que contém tal composto, pode ser administrado a um indivíduo humano com uma série de propósitos, tais como manutenção, intensificação e/ou melhora da função cognitiva, aprendizado, memória, humor, ansiedade, depressão, enxaqueca, e/ou outras condições. Como a composição de contra-íon de magnésio compreende um mineral endógeno, magnésio, e possivelmente outros ingredientes naturais, tal como um agente intensificador aqui descrito, por exemplo, na maioria das modalidades, a administração do composto de contra-íon de magnésios da presente invenção pode ser segura durante um prazo relativamente longo. Em ainda outras modalidades, a administração desse composto de contra-íon de magnésio ou composição ocorre durante um período de tempo longo. Por exemplo, um indivíduo pode receber a administração do composto e/ou composições da presente invenção por semanas, meses, anos, e/ou durante a vida inteira. Tal administração de longo prazo pode ser usada para prevenir ou tratar uma condição, tal como MCI, ou pode ser útil para prevenir a progressão de uma condição (por exemplo, prevenir a progressão de uma condição, tal como MCI, para outra condição, tal como doença de Alzheimer (AD)). Estes exemplos não são exemplos limitativos, pois a administração de longo prazo dos compostos de contra-íons de magnésio da presente invenção podem ser usados para múltiplos propósitos, como aqui descrito e como reconhecido pelos versados

nessas técnicas.

Uma composição de contra-íon de magnésio aqui descrita pode compreender um ou mais componentes apropriados, tais como uma composição farmacêutica apropriada ou fármaco associado ao tratamento de MCI, AD, diabetes, ADHD, ALS, doença de Parkinson, ALS, e/ou hipertensão, por exemplo. O magnésio, particularmente na forma de um composto de contra-íon de magnésio da presente invenção (por exemplo, treonato de magnésio) pode ser eficaz no tratamento de hipertensão. Um indivíduo afligido com MCI, AD e/ou diabetes pode ter uma deficiência de magnésio, que pode ser enfrentada por fármaco de composição farmacêutica usado para tratar a aflição. Contempla-se que o magnésio e essa composição farmacêutica ou fármaco em uma composição de contra-íon de magnésio aqui descrita pode funcionar de forma sinérgica de uma maneira apropriada, tal como biologicamente benéfica e/ou de uma maneira terapeuticamente eficaz. Os exemplos não-limitativos de uma composição farmacêutica ou fármaco associado ao tratamento de AD incluem inibidores de acetilcolina esterase (por exemplo, donepezil, rivastagmina, ou galantamina) e bloqueadores do canal de NMDA, tal como memantina. Os versados nessas técnicas devem reconhecer que esses produtos farmacêuticos são fornecidos meramente a título exemplificativo e não delineiam o âmbito dos produtos farmacêuticos que podem ser usados em combinação com os compostos de contra-íons de magnésio da presente invenção.

Um composto de contra-íon de magnésio apropriado para administração a um indivíduo pode ser administrado de qualquer maneira apropriada. Tal administração pode ser oral e/ou qualquer outra administração apropriada, tal como transdérmica, intramuscular, vaginal, retal, subdérmica. Os componentes de uma composição de contra-íon de magnésio, tais como pelo menos um composto de contra-íon de magnésio e pelo menos um agente para intensificar a biodisponibilidade de magnésio podem ser administrados a um indivíduo concomitantemente, tal como de qualquer maneira de administração concomitante aqui descrita e/ou descrita na publicação do pedido de patente nº US 2006/0089335 A1.

Um composto de contra-íon de magnésio apropriado para administração a um indivíduo pode ser fornecido em qualquer forma apropriada, tal como uma forma de líquido, uma forma de gel, uma forma de semilíquido (por exemplo, um líquido, tal como um líquido viscoso, contendo algum sólido), uma forma de semi-sólido (um sólido que contém algum líquido), e/ou uma forma de sólido, por exemplo. Meramente a título exemplificativo, uma forma de comprimido, uma forma de cápsula, uma forma de alimento, uma forma mascável, uma forma não-mascável, uma forma com liberação lenta ou prolongada, uma forma com liberação não-lenta ou não-prolongada, e/ou similares, podem ser empregadas. Os comprimidos com liberação gradual são conhecidos nessas técnicas. Os exemplos de tais comprimidos estão enunciados na patente nº US 3,456.049. Tal composição pode compreender um agente ou agentes adicionais, sejam eles ativos ou passivos. Os exemplos de tais agentes incluem um agente edulcorante, um agente saporífero, um agente colorante, um agente de enchimento, um agente aglutinante, um agente lubrificante, um excipiente, um conservante, um agente de fabricação e/ou similares, meramente a título exemplificativo, de qualquer maneira apropriada. Uma forma com liberação lenta ou prolongada pode retardar a desintegração e/ou absorção da composição e/ou um ou mais dos seus componentes durante um período, tal como um período relativamente longo, por exemplo. Uma forma de alimento pode tomar uma forma de uma barra de alimento, um produto de cereal, um produto de confeitaria, um produto lácteo e/ou similares, por exemplo. Um produto de confeitaria pode tomar a forma um produto semelhante a pão, tal como uma rosca ou pão em si, por exemplo, uma rosquinha frita (*donut*), um bolinho (*muffin*), e/ou similares, meramente a título exemplificativo. Um componente de uma composição de contra-íon de magnésio pode ser fornecido em uma forma que é diferente daquela de outro componente da composição de contra-íon de magnésio. Por exemplo, pelo menos um composto de contra-íon de magnésio pode ser fornecido em uma forma sólida, tal como um alimento sólido ou cereal que é ingerido com um agente intensificador na forma de um líquido, tal como uma substância dietética líquida. Essa administração de composições de contra-

íons de magnésio em múltiplas formas pode ocorrer simultaneamente (por exemplo, ingerindo um comprimido de treonato de magnésio com leite fortificado com treonato de magnésio, ou em horas diferentes.

Em algumas modalidades, a composição de contra-íon de magnésio na forma de uma pílula, comprimido, cápsula, ou dispositivo semelhante, pode compreender entre cerca de 30 mg e cerca de 200 mg de magnésio elementar. Em outras modalidades, uma composição de contra-íon de magnésio pode conter entre cerca de 50 mg e cerca de 100 mg de magnésio elementar associado com pelo menos um composto de contra-íon de magnésio. Em ainda outras modalidades, uma composição de contra-íon de magnésio na forma de uma porção de comida, ou porção dietética similar, pode compreender entre cerca de 20 mg e cerca de 1 g ou mesmo 1,5 g de magnésio elementar. Em ainda outras modalidades, uma composição de contra-íon de magnésio na forma de uma porção de comida, ou porção dietética similar, pode compreender entre cerca de 50 mg e cerca de 800 mg de magnésio elementar.

Uma composição de contra-íon de magnésio apropriada para administração a um indivíduo pode ser fornecida na forma líquida, tal como uma apropriada para administração oral, administração parenteral e/ou outras vias apropriada. Tal composição pode compreender qualquer agente ou agentes adicionais apropriados, sejam eles ativos ou passivos. Os exemplos de tais agentes incluem água, um agente edulcorante, um agente saporífero, um agente colorante, um agente texturizante, um agente estabilizador, um conservante, um agente de fabricação, e/ou similares, em qualquer forma apropriada. Um componente que pode afetar negativamente a biodisponibilidade de magnésio, tal como um fosfato ou um polifosfato, por exemplo, pode ser evitado. Uma composição de contra-íon de magnésio na forma líquida pode compreender entre cerca de 5 mg/L e cerca de 12 g/L, tal como entre cerca de 50 mg/L e cerca de 12 g/L, por exemplo, of magnésio elementar associado com o contra-íon de magnésio da composição. Uma quantidade entre cerca de 50 mg/L e cerca de 3 g/L, tal como entre cerca de 100 mg/L e cerca de 1,5 g/L, por exemplo, de magnésio elementar associado

com o contra-íon de magnésio, pode ser apropriada para aplicação profilática e/ou aplicação nutricional. Uma quantidade entre cerca de 300 mg/L e cerca de 12 g/L, tal como entre cerca de 500 mg/L e cerca de 3,5 g/L, por exemplo, de magnésio elementar associado com o contra-íon de magnésio, pode ser apropriada para aplicação terapêutica.

Uma composição de contra-íon de magnésio na forma líquida pode ser usada de qualquer maneira apropriada. Em algumas modalidades, a composição de contra-íon de magnésio pode ser usada como uma bebida, tal como uma bebida baseada em leite, uma bebida esportiva, uma bebida de suco de frutas, uma bebida alcoólica, e/ou similares. Em outras modalidades, a composição de contra-íon de magnésio na forma líquida contém múltiplos compostos de contra-íons de magnésio. Em tais modalidades, a porcentagem em peso de cada composto de contra-íon de magnésio pode variar um em relação ao outro. Em ainda outras modalidades, a composição de contra-íon de magnésio na forma líquida pode tomar a forma de um produto fortificado com magnésio, compreendendo água, treonato de magnésio, e opcionalmente, pelo menos um agente suficiente para conferir uma propriedade apropriada ao produto. Em ainda outra modalidade, uma composição de contra-íon de magnésio na forma líquida pode ser formulada a partir de uma mistura seca, tal como uma mistura de bebida seca ou um pó que compreende leite fortificado com magnésio. Uma mistura seca pode ser apropriada em termos de transporte, estocagem e/ou tempo de vida de prateleira. A composição pode ser formulada a partir da mistura seca de qualquer maneira apropriada, tal como adicionando um líquido apropriado (por exemplo, água, leite, suco de frutas, álcool, etc.).

Os exemplos concernentes aos compostos de contra-íons de magnésio e das composições de contra-íons de magnésio, e a preparação, teste e/ou uso dos mesmos, são fornecidos abaixo.

Uso como Suplemento Dietético

Uma modalidade da presente invenção é um suplemento dietético de magnésio. Em algumas modalidades, o suplemento dietético de magnésio contém um ou mais compostos de contra-íons de magnésio da presen-

te invenção e pode conter opcionalmente outros ingredientes reconhecidos genericamente como seguros para uso como aditivo de alimentos, incluindo, porém sem limitações, conservantes (por exemplo, hidróxi-tolueno butilado, hidróxi-anisol butilado), emulsificantes grau alimentício (por exemplo, lecitina, ésteres de propilenoglicol), e carreadores e excipientes farmacêuticamente aceitáveis (por exemplo, aglutinantes, cargas, lubrificantes, auxiliares de dissolução).

Em uma modalidade, a composição de suplemento de contra-íon de magnésio da presente invenção é fabricada combinando treonato de magnésio ou outros compostos de magnésio da invenção, bem como quaisquer componentes adicionais, nas quantidades relativas desejadas, e misturando os componentes de acordo com métodos conhecidos para produzir uma mistura substancialmente homogênea.

Em outra modalidade, a composição de contra-íon de magnésio pode conter também outros materiais ativos nutricionais, incluindo, sem limitações, materiais que contêm cálcio, tais como carbonato de cálcio, ésteres de etanol, ácido hidróxi-cítrico, vitaminas, minerais, materiais herbáceos, condimentos, e misturas dos mesmos. Os exemplos de vitaminas disponíveis como ingredientes adicionais incluem, porém sem limitações, vitamina A (retinol), vitamina D (colecalfiferol), grupo de vitamina E (alfa-tocoferol e outros tocoferóis), grupo de vitamina K (filoquinonas e menaquinonas), tiamina (vitamin B₁), riboflavina (vitamin B₂), niacina, grupo de vitamina B₆, ácido fólico, vitamin B₁₂ (cobalaminas), biotina, vitamina C (ácido ascórbico), e misturas delas. A quantidade de vitamina ou vitaminas presentes no produto final é dependente da vitamina específica. Os exemplos de minerais que estão disponíveis como ingredientes adicionais incluem, porém sem limitações, cálcio, magnésio, fósforo, ferro, zinco, iodo, selênio, potássio, cobre, manganês, molibdênio e misturas dos mesmos. Do mesmo modo que nas vitaminas, a quantidade de mineral ou minerais presentes no produto final depende do mineral específico. Deve ficar evidente para os versados nessas técnicas que a presente lista de componentes nutracêuticos adicionais é fornecida apenas a título exemplificativo, e não pretende ser limitativa.

O treonato de magnésio é uma forma altamente biodisponível de uma composição de contra-íon de magnésio. Entretanto, a acessibilidade *in vivo* deste treonato de magnésio pode ser proporcionada de múltiplas maneiras. Em algumas modalidades, um indivíduo ingere treonato de magnésio.

5 Em outras modalidades, o magnésio pode ser tomado com outros suplementos, que resultam em uma reconstituição *in vivo* da composição de contra-íon de magnésio. Sem se ater à teoria, o treonato pode funcionar para promover a captação celular de magnésio em qualquer forma e pode também intensificar a distribuição para o cérebro e sistema nervoso central. Assim

10 sendo, em algumas modalidades, o magnésio pode ser dado não-complexado com treonato e o treonato é fornecido para o mesmo indivíduo a fim de intensificar a absorção. Por exemplo, o gliconato de magnésio e treonato de potássio podem ser tomados de forma essencialmente concomitante para resultar em uma reconstituição *in vivo* de treonato de magnésio e/ou

15 para intensificar a captação de magnésio e/ou distribuição de magnésio para o cérebro. Em outro exemplo, certos contra-íons podem ser produtos metabólicos de outras substâncias. Por exemplo, a vitamina C é metabolizada para dar íon treonato em seres humanos; portanto, a ingestão de magnésio em uma forma que pode ser captada pelo corpo e vitamina C pode resultar

20 na reconstituição de treonato de magnésio no corpo. Outro exemplo de uma substância que é metabolizada para dar treonato em humanos é o ascorbato. Assim sendo, em algumas modalidades da presente invenção, o ascorbato de magnésio pode ser fornecido para um indivíduo e esta substância seria metabolizada para dar magnésio e treonato *in vivo*. Os versados nessas técnicas

25 devem reconhecer que estes exemplos são fornecidos apenas a título ilustrativo e que outras combinações de compostos de magnésio e compostos secundários podem resultar na reconstituição de uma composição de contra-íon de magnésio *in vivo*.

Em ainda outra modalidade, o presente suplemento dietético ou

30 composições alimentícios são formuladas para ter sabor, textura, e viscosidade apropriadas e desejáveis para consumo. Qualquer carreador de alimento pode ser usado nas presentes composições alimentícias. Os carrea-

dores de alimento da presente invenção incluem praticamente qualquer produto alimentício. Os exemplos desses carreadores de alimentos incluem, porém sem limitações barras de comida (barras de granola, barras de proteína, barras de bombons, etc.), produtos de cereais (farinha de aveia, cereais do café da manhã, granola, etc.), produtos de confeitaria (pão, *donuts*, bolachas, roscas, pastéis, bolos, etc.), bebidas (bebida baseada em leite, refrescos esportivos, sucos de frutas, bebidas alcoólicas, águas engarrafadas), massas, grãos (arroz, milho, aveia, centeio, trigo, farinha, etc.), produtos de ovos, lanches (bombons, salgadinhos, jujuba, chocolate, etc.), carnes, frutas, e vegetais.

Em uma modalidade, os carreadores de alimentos aqui empregados podem mascarar o sabor indesejável (por exemplo, amargor), caso presente em um ou mais dos compostos de contra-íons de magnésio em questão. Quando desejado, as composições alimentícias aqui apresentadas apresentam texturas e aromas mais desejáveis do que dos compostos de contra-íons de magnésio.

Por exemplo, carreadores de alimentos líquidos podem ser usados de acordo com a invenção para obter composições alimentícias na forma de bebidas, tais como sucos, cafés, chás, e similares, suplementados. Em outras modalidades, carreadores de alimentos sólidos podem ser usados de acordo com a invenção para obter as presentes composições alimentícias na forma de substituições de refeições, tais como barras de lanches, massas, pães, e similares, suplementadas. Em ainda outras modalidades, carreadores de alimentos semi-sólidos podem ser usados de acordo com a invenção para obter as presentes composições alimentícias na forma de jujubas, balas mastigáveis ou salgadinhos, e similares.

Em outra modalidade, a composição de suplemento da presente invenção pode ser administrada em qualquer forma de dosagem oral, incluindo formas de dosagem líquidas (por exemplo, uma suspensão ou pasta), e formas de dosagem sólidas orais (por exemplo, a um comprimido ou pó solto). Como aqui utilizado, o termo "comprimido" refere-se genericamente a comprimidos, *caplets*, cápsulas, incluindo cápsulas de gelatina mole, e pasti-

lhas.

Os comprimidos são fabricados por métodos conhecidos nessas técnicas e podem compreender ainda aglutinantes, lubrificantes, diluentes, agentes desintegradores, colocrantes, agentes saporíferos, agentes indutores de fluidez, agentes de derretimento apropriados conhecidos nessas técnicas. A forma de dosagem oral pode ter, opcionalmente, um revestimento pelicular para proteger os componentes da composição de suplemento de contra-íon de magnésio contra um ou mais entre umidade, oxigênio, e luz ou para mascarar qualquer sabor ou aparência indesejável. Os agentes de revestimento apropriados incluem, por exemplo, celulose, hidróxi-propil-metil-celulose. Quando desejado, os comprimidos podem ser formulados em formato com liberação prolongada. Os métodos para fabricar comprimidos com liberação prolongada são conhecidos nessas técnicas; vide, por exemplo, documentos n^{os} US 2006/051416 e US 2007/0065512, sendo ambos documentos aqui incorporados como referência.

Em ainda outras modalidades, os compostos de contra-íons de magnésio da presente invenção são adicionados a produtos alimentícios. Tais produtos alimentícios podem ter teores naturalmente altos ou baixos de magnésio. Os exemplos de produtos alimentícios que têm altos teores de incluem, porém sem limitações, refrigerantes (por exemplo, cocas, Gatorade, café), leite, flocos de farelos, farinha de aveia, trigo desfibrado, pão de trigo integral, sucos de frutas e/ou vegetais, e batatas. Outros produtos alimentícios estão facilmente disponíveis em múltiplos exemplos foram descritos (vide, por exemplo, patentes n^{os} US 6.790.462, 6.261.589, e pedidos de patente n^{os} US 10/725.609 e 11/602.126.

Uso como Produto Farmacêutico

Uma modalidade da presente invenção é uma composição farmacêutica, tipicamente para administração a uma pessoa que necessita de níveis terapêuticos de magnésio. Vários sistemas de distribuição são conhecidos e podem ser usados para administrar as composições de magnésio da invenção, por exemplo, encapsulação em lipossomas, micropartículas, microcápsulas, etc. Os métodos de distribuição incluem, porém sem limitações,

as vias intra-arteriais, intramusculares, intravenosas, intranasais, e orais. Em uma modalidade específica, pode ser desejável administrar as composições farmacêuticas da invenção localmente à área que necessita de tratamento; isto pode ser realizado, por exemplo, e não a título limitativo, emplastos transdérmicos, infusão local durante cirurgia, por injeção, por meio de um cateter (com ou sem uma bomba anexada), ou banho em solução de magnésio. Em algumas modalidades, os agentes são distribuídos para o sistema nervoso de um indivíduo, de preferência, o sistema nervoso central.

Em algumas modalidades, a administração das composições de contra-íons de magnésio pode ser efetuada em uma dose, continuamente ou intermitentemente, durante o curso inteiro do tratamento. Os métodos para determinar o meio mais eficaz e a dosagem de administração são bem conhecidos pelos versados nessas técnicas e devem variar com a composição usada para a terapia, propósito da terapia, célula ou tecido-alvo que está sendo tratado, e com o indivíduo que está sendo tratado. Administrações únicas ou múltiplas podem ser conduzidas, sendo o nível da dose e o padrão selecionados pelo médico assistente.

Para administração oral, as composições inventivas podem ser opcionalmente formuladas misturando as composições que contêm magnésio com carreadores fisiologicamente ou farmaceuticamente aceitáveis bem conhecidos pelos versados nessas técnicas. Tais formas de dosagem orais podem ser formuladas como comprimidos, pílulas, drágeas, cápsulas, emulsões, suspensões lipofílicas e hidrofílicas, líquidos, géis, xaropes, pastas, suspensões e similares, para ingestão oral por um indivíduo ou um paciente a ser tratado.

Em uma modalidade, a composição que contém magnésio fica contida em cápsulas. As cápsulas apropriadas para administração oral incluem cápsulas "push-fit", feitas de gelatina, bem como cápsulas moles seladas feitas de gelatina e um plastificante, tal como glicerol ou sorbitol. As cápsulas empurra e encaixa podem conter os ingredientes ativos misturados com carga, tal como lactose, aglutinantes, tais como amidos e/ou lubrificantes tais como talco ou estearato de magnésio e, opcionalmente, estabilizadores. Op-

cionalmente, a composição da invenção para uso oral pode ser obtida misturando a composição que contém magnésio com um excipiente sólido, opcionalmente moendo a mistura resultante, e processando a mistura de grânulos, depois de adicionar auxiliares apropriados, caso desejado, para obter comprimidos ou núcleos de drágeas. Os excipientes apropriados são, particularmente, cargas tais como açúcares, incluindo lactose, sacarose, manitol, ou sorbitol; preparações de celulose, tais como, por exemplo, amido de milho, amido de trigo, amido de arroz, amido de batata, gelatina, goma de tragacanto, metil-celulose, hidróxi-propil-metil-celulose, carbóxi-metil-celulose sódica e/ou poli(vinil-pirrolidona) (PVP). Caso desejado, agents desintegradores podem ser adicionados, tais como poli(vinil-pirrolidona) reticulada, ágar, ou ácido algínico ou um seu sal, tal como alginato de sódio. Os núcleos de drágeas são fornecidos com revestimentos apropriados. Com este propósito, podem ser usadas soluções concentradas de açúcar que podem conter opcionalmente goma-arábica, talco, poli(vinil-pirrolidona), Carbopol em gel, polietilenoglicol e/ou dióxido de titânio, soluções de vernizes, e solventes orgânicos apropriados ou misturas de solventes. Corantes ou pigmentos podem ser adicionados aos comprimidos ou revestimentos de drágeas para identificação ou caracterizar as diferentes combinações de doses de compostos ativos. Para administração bucal, as composições da invenção podem tomar a forma de comprimidos ou pastilhas formuladas de uma maneira convencional. Para administração por inalação, as composições da presente invenção podem ser distribuídas na forma de uma apresentação em *spray* de aerossol a partir de embalagens pressurizada ou um nebulizador, com o uso de um propelente apropriado, por exemplo, dicloro-diflúor-metano, tricloro-flúor-metano, dicloro-tetraflúor-etano, dióxido de carbono ou outro gás apropriado, ou a partir de inaladores com pó seco sem propelente. No caso de aerossol pressurizando, a unidade de dosagem pode ser determinada instalando uma válvula para distribuir uma quantidade dosada. As cápsulas e cartuchos, por exemplo, de gelatina para uso em um inalador ou insulfador podem ser formulados contendo uma mistura de pós do composto e uma pase para pó apropriada, tal como lactose ou amido.

A preparação das composições farmacêuticas desta invenção é conduzida de acordo com procedimentos aceitos genericamente conhecidos para a preparação de preparações farmacêuticas (vide, por exemplo, "Remington's Pharmaceutical Sciences" 18ª Edição (1990), editor E.W. Martin, Mack Publishing Co., PA. Dependendo do uso e modo de administração pretendido, pode ser desejável processar o composto de contra-íon de magnésio adicionalmente na preparação de composições farmacêuticas. O processamento apropriado pode incluir misturar com componentes atóxicos e não interferentes apropriados, esterilizar, dividir em unidades de dose, e encerrar em um dispositivo de distribuição.

As composições farmacêuticas para administração oral, intranasal, ou tópica podem ser fornecidas em formas sólidas, semi-sólidas ou líquidas, incluindo comprimidos, cápsulas, pós, líquidos, e suspensões. As composições para injeção podem ser fornecidas como soluções ou suspensões líquidas, como emulsões, ou como formas sólidas apropriadas para dissolução ou suspensão em líquido antes da injeção. Para administração por intermédio do trato respiratório, uma composição preferida é uma que fornece um sólido, pó, ou aerossol quando usada com um dispositivo formador de aerossol apropriado.

As composições líquidas farmaceuticamente aceitáveis podem ser preparadas, por exemplo, dissolvendo ou dispersando um polipeptídeo incorporado neste caso em um excipiente líquido, tal como água, solução salina, solução aquosa de dextrose, glicerina, ou etanol. A composição pode conter também outros agentes medicinais, agentes farmacêuticos, adjuvantes, carreadores, e substâncias auxiliares tais como agentes umectantes ou emulsificantes, e agentes tamponadores do pH.

Em algumas modalidades, a suplementação de magnésio é proporcionada para atingir um estado ideal de magnésio no corpo, suplementando a dieta de uma pessoa com uma composição de magnésio da presente invenção. Como aqui descrito, há uma faixa desejável de magnésio no corpo, abaixo da qual e acima da qual, ocorrem efeitos prejudiciais. Por exemplo, caso o magnésio no corpo esteja baixo demais, então pode resultar

um resultado de função cognitiva; entretanto, uma dieta alta demais em magnésio pode resultar em diarreia. Uma abordagem de formular para determinar a dosagem ótima de magnésio está mais inteiramente detalhada nos exemplos fornecidos. Em algumas modalidades, o uso das fórmulas

5 descritas nos exemplos abaixo (e outros métodos desses), permitirá que um indivíduo mantenha um esquema de dosagem que permite que a concentração fisiológica tão alta quanto possível, sem encontrar efeitos prejudiciais. Um estado desejado de magnésio no corpo pode ser definido e/ou determinado de uma série de maneiras, incluindo, porém sem limitações, concen-

10 tração sanguínea de magnésio, concentração de magnésio no líquido cerebrospinal (CSF), concentração tecidual de magnésio, concentração intracelular de magnésio, e concentração de magnésio em eritrócitos. O estado desejado de magnésio no corpo pode ser aplicável para a saúde geral, bem como para aplicações terapêuticas específicas aqui descritas (por exemplo, enfra-

15 quecimento cognitivo brando, doença de Alzheimer (AD), depressão, osteoporose, diabetes, etc.). Deve-se entender que para o tratamento diferentes condições, o estado ideal de magnésio no corpo pode ser diferente para atingir os efeitos desejados. Por exemplo, apenas a título exemplificativo, pode ser necessário fornecer para uma pessoa uma dosagem de magnésio

20 diferente que aumentará a concentração de magnésio no corpo em 10% para tratar enfraquecimento cognitivo, mas uma dosagem que aumentará a concentração de magnésio no corpo em 15% para tratar diabetes e/ou função cardiovascular. Em outras palavras, as composições aqui descritas podem ser utilizadas para os métodos aqui descritos para atingir um efeito te-

25 rapeuticamente eficaz de concentrações de magnésio no corpo.

As composições farmacêuticas podem ser formuladas em formas com liberação lenta ou liberação prolongada, pelas quais um nível relativamente consistente do composto ativo é proporcionado durante um período prolongado. Em algumas modalidades, uma composição de contra-íon de

30 magnésio e/ou outros agentes terapêuticos podem ser administrados conjuntamente ou separadamente, usando uma forma de dosagem com liberação controlada. A liberação controlada, dentro do âmbito desta invenção, pode

significar qualquer uma entre inúmeras formas de dosagem com liberação prolongada. As formas de dosagem com liberação prolongada estão descritas por em Heaton *et al.*, publicação do pedido de patente nº US 2005/0129762 A1; e Edgren *et al.* publicação do pedido de patente nº US 2007/0128279 A1, que são aqui incorporados como referência. As formulações com liberação temporal são conhecidas nessas técnicas e estão descritas em Sawada *et al.*, publicação do pedido de patente nº US 2006/0292221 A1, que é aqui incorporado como referência. Os seguintes termos podem ser considerados substancialmente equivalentes a liberação controlada para os propósitos da presente invenção: liberação contínua, liberação controlada, liberação retardada, depósito, liberação gradual, liberação em longo prazo, liberação programada, liberação prolongada, liberação proporcional, liberação demorada, repositória, retardo, liberação lenta, liberação espaçada, liberação sustentada, revestimento temporal, liberação cronometrada, ação retardada, ação estendida, ação em tempo fracionado, atuação longa, ação prolongada, ação repetida, atuação com desaceleração, ação sustentada, medicações com ação sustentada, e liberação estendida. Discussões adicionais destes termos podem ser encontradas em Lesczek Krowczynski, "Extended-Release Dosage Forms", 1987 (CRC Press, Inc.). As várias tecnologias de liberação controlada cobrem um espectro muito amplo de formas de dosagem de fármacos. As tecnologias de liberação controlada incluem, porém sem limitações, sistemas físicos e sistemas químicos.

Uso de um Excipiente

Os excipientes da presente invenção compreendem treonato de magnésio, com ou sem agentes aumentativos. O composto de contra-íon de magnésio em questão, por exemplo, treonato de magnésio, pode funcionar como um excipiente farmaceuticamente aceitável. Na realidade, a compressão de treonato de magnésio puro produz comprimidos que retêm seu formato, são resistentes à umidade e têm uma vida de prateleira aceitável.

Em algumas modalidades da invenção, o treonato de magnésio pode ser prensado para dar uma forma de pílula sem um excipiente. Em outras modalidades, o treonato de magnésio pode ser combinado com um lu-

brificante farmaceuticamente aceitável, tal como estearato de magnésio. Em
ainda outras modalidades, o treonato de magnésio pode ser combinado com
outros ingredientes que afetam funções cognitivas e/ou a saúde geral (por
exemplo, vitaminas D e E). Em ainda outras modalidades, uma pílula, com-
5 primido, drágea, pastilha ou outra forma farmacêutica aceitável pode conter
treonato de magnésio como um excipiente e ser combinado com outro agente
de escolha, incluindo, porém sem limitações, fármacos usados para tratar
doença de Alzheimer (AD) (por exemplo, inibidores de colinesterase – Ari-
cept, Exelon, Razadine; reguladores de glutamato – memantina). Os versa-
10 dos nessas técnicas devem reconhecer que inúmeros outros produtos far-
macêuticos, nutracêuticos, suplementos e outros componentes podem ser
adicionados às formas de dosagem aqui descritas, onde treonato de magné-
sio é usado como um excipiente.

A fabricação de comprimidos por compressão direta é preferida
15 para muitos produtos na indústria farmacêutica. Ela é um processo simples
que envolve equipamentos, tempos operacionais e custos menos extensi-
vos. Celulose microcristalina é um exemplo de um excipiente para proces-
samento por compressão direta. A celulose microcristalina tem inerentemen-
te alta capacidade de compactação devido à sua deformação plástica e re-
20 cuperação elástica limitada. A celulose microcristalina usualmente propor-
ciona boa dispersão do fármaco, misturação ordenada uniforme com alguns
fármacos e graus específicos de celulose microcristalina. Entretanto, as pro-
priedades de fluidez do material são relativamente deficientes para a maioria
dos graus de celulose microcristalina. Uma fluidez intermitente e não-
25 uniforme pode ocorrer à medida que a formulação se move do alimentador
para a matriz em uma prensa de comprimidos. Esta fluidez não-uniforme
pode levar a variações do teor de fármaco na formade dosagem acabada
prensada em comprimidos.

Em algumas modalidades, será utilizado um processo de granu-
30 lação a úmido. A preferência do processo de granulação a úmido em compa-
ração com o processo de compressão direta baseia-se em pelo menos três
vantagens potenciais. Primeiramente, a granulação a úmido pode produzir o

material a ser compactado com uma natureza mais hidrofílica, para melhorar as características de umectação, desintegração e dissolução de alguns fármacos ou ingredientes hidrofóbicos. Em segundo lugar, a proporção de uniformidade e a resistência à segregação do fármaco podem ser aumentadas usando uma etapa de granulação para manter o fármaco e o excipiente unidos um ao outro durante a mistura. Finalmente, as características micrométricas dos pós componentes podem ser otimizadas antes da compactação, o que é frequentemente auxiliado pela incorporação de um aglutinante polimérico. Normalmente considera-se que esta última propriedade somada à granulação a úmido produzirá um produto significativamente mais capaz de ser compactado e conseqüentemente comprimido mais robusto e mais resistente.

A presente invenção refere-se em parte ao uso inusitado de treonato de magnésio como um excipiente farmaceuticamente aceitável.

Dependendo da quantidade e tipo de secagem, a concentração do treonato de magnésio na forma de uma torta úmida e quaisquer agentes aumentativos presentes, as partículas compressíveis terão tamanhos de partícula, densidades, pH, teor de umidade, etc., diferentes. Os versados nessas técnicas devem avaliar que o treonato de magnésio podem ser usado em combinação com outros excipientes, incluindo, porém sem limitações, lactose, celulose microcristalina, dióxido de silício, dióxido de titânio, ácido esteárico, amido (milho, glicolato de amido sódico, Povidona, amido pré-gelatinizado, croscarmellose, etil-celulose, fosfato de cálcio (dibásico), talco, sacarose, estearato de cálcio, hidróxi-propil-metil-celulose e goma-laca (e verniz).

Os exemplos de agentes ativos terapêuticos com os quais resultados melhores de desintegração podem ser obtidos incluem ibuprofeno, aldoril, e genfebrozil, que são de dose relativamente alta (maior do que 200 mg/dose) e são insolúveis em água; verapamil, maxzida, diclofenaco e metrolol, que são fármacos de dose moderada (25-200 mg/dose) e solúveis em água; maprotilina, que é de dose moderada (25-200 mg/dose) e insúvel em água; triazolam e minoxidil, que são de dose relativamente baixa (less than

25 mg/dose) e insolúbeis em água. Estes exemplos são fornecidos apenas com propósito de discussão, e não pretendem demonstrar o amplo espectro de aplicabilidade da a uma série de fármacos. Não se pretende de forma alguma limitar o âmbito da invenção.

5 Os surfactantes que podem ser usados na presente invenção como um agente de aumentativo da compressibilidade incluem genericamente todos surfactantes farmaceuticamente aceitáveis. Os surfactantes aniônicos farmaceuticamente aceitáveis apropriados incluem, por exemplo, aqueles que contêm íons carboxilato, sulfonato, e sulfato. Aqueles que con-
10 têm íons carboxilato são referidos algumas vezes como sabões e são preparados genericamente por saponificação de glicerídeos de ácidos graxos naturais em soluções alcalinas. Os cátions mais comuns associados com estes surfactantes são sódio, potássio, amônio e trietanol-amina. O comprimento de cadeia dos ácidos graxos fica na faixa entre 12 e 18. Embora um grande
15 número de sulfatos de alquila estão disponíveis como surfactantes, um surfactante particularmente preferido é lauril-sulfato de sódio, que tem um valor de HLB de cerca de 40.

Nas técnicas farmacêuticas, o lauril-sulfato de sódio tem sido usado como um agente emulsificante em quantidades de até cerca de 0,1%
20 em peso da formulação. O lauril-sulfato de sódio é um sal solúvel em água, produzido como um pó branco ou creme, cristais, ou escamas, e é usado como um agente umectante e detergente. Conhecido também como dodecil-sulfato de sódio, o lauril-sulfato de sódio é realmente uma mistura de alquil-sulfatos de sódio, consistindo principalmente em lauril-sulfato de sódio. O
25 lauril-sulfato de sódio é conhecido também como sal sódico do éster do ácido sulfúrico com monododecila. Além disso, o lauril-sulfato de sódio está disponível facilmente em fornecedores comerciais tais como Sigma ou Aldrich na forma sólida e também como uma solução. A solubilidade do lauril-sulfato de sódio é de cerca de 1 g por 10 mL de água. Os ácidos graxos de
30 óleo de coco, que consistem principalmente em ácido láurico, são hidrogenados cataliticamente para formar os álcoois correspondentes. Os álcoois são então esterificados com ácido sulfúrico (sulfatados) e a mistura resultan-

te de bissulfatos (ácidos alquil-sulfúricos) é convertida em sais de sódio reagindo com álcali sob condições controladas de pH.

Os surfactantes aniônicos alternativos incluem sais de docusato tais como o sal de sódio dos mesmos. Outros surfactantes aniônicos apropriados incluem, sem limitações, carboxilatos de alquila, lactilatos de acila, carboxilatos de alquil éter, sarcosinatos de N-acila, carbonatos de alquilas polivalentes, glutamatos de N-acila, ácidos graxos, condensados de polipeptídeos e ésteres do ácido sulfúrico.

Em outros aspectos da invenção, surfactantes anfotéricos (surfactantes anfipáticos/anfifílicos), surfactantes não-iônicos e/ou surfactantes catiônicos estão incluídos nas composições coprocessadas da invenção. Os surfactantes não-iônicos farmaceuticamente aceitáveis apropriados, tais como, por exemplo, compostos de polioxietileno, lecitina, álcoois etoxilados, ésteres etoxilados, amidas etoxiladas, compostos de polioxipropileno, álcoois propoxilados, polímeros em bloco etoxilados/propoxilados, ésteres propoxilados, alcanolamidas, óxidos de aminas, ésteres de ácidos graxos com álcoois poli-hidroxilados, ésteres de etilenoglicol, ésteres de dietilenoglicol, ésteres de propilenoglicol, ésteres de glicerina, ésteres de ácidos graxos com poliglicerina, SPAN's (por exemplo, ésteres de sorbitano), TWEEN's (isto é, ésteres de sacarose), ésteres de glicose (dextrose) e simeticona.

Outros surfactantes farmaceuticamente aceitáveis apropriados incluem acácia, cloreto de benzalcônio, colesterol, cera emulsificante, monoestearato de glicerina, álcoois de lanolina, lecitina, poloxâmero, polioxietileno, e derivados de óleo de rícino. Os versados na técnica devem avaliar ainda que o nome e/ou método de preparação do surfactante utilizado na presente invenção não são determinantes da utilidade do produto.

Moléculas altamente polares podem ser utilizadas como agente aumentativo da compressibilidade. Tais moléculas altamente polares incluem certos corantes, particularmente aqueles que são capazes de ligar-se à superfície da celulose, e ao mesmo tempo, depois disso criar um ambiente relativamente hidrofóbico devido à presença de uma parte hidrofóbica da molécula (por exemplo, uma cauda hidrofóbica) que "aponta para fora" da

superfície da celulose e impede as interações da superfície hidrofílica com a superfície da celulose, tais como ligações hidrogênio. De preferência, o corante é um que é farmacêuticamente aceitável para inclusão em formas de dosagem sólidas.

- 5 Os exemplos de corantes apropriados incluem Vermelho do Congo (nome químico: sal 3,3'-[[1,1'-bifenil]-4,4'-diil-bis-(azo)]bis[4-amino-1-ácido naftalenossulfônico dissódico]; FD&C Vermelho No. 40 (conhecido também como "Allura Red") (nome químico: sal dissódico de 6-hidróxi-5[(2-metil-4-sulfofenil)azo] ácido -2-naftalenossulfônico); FD&C Amarelo No. 5
 10 (nome genérico: tartrazina) (nome químico: ácido 5-oxo-1-(p-sulfofenil)-4-[(p-sulfofenil)azo]-2-pirazolina-3-carboxílico sal trissódico); FD&C Amarelo No. 6 (nome genérico: Sunset Yellow FCF) (nome químico: sal dissódico do ácido 1-p-sulfofenil-azo-2-naftol-6-sulfônico); Ponceau 4R (nome químico: trissódio-2-hidróxi-1-(4-sulfonato-1-naftil-azo) naftaleno-6,8-dissulfonato); Marrom
 15 HT (nome químico: dissódio 4,4'-(2,4-diidróxi-5-hidroximetil-3,3-fenileno-bis-azo)di(naftaleno-1-sulfonato)); Brilliant Black BN (nome químico: 4-acetamido-5-hidróxi-6-[7-sulfonato-4-(4-sulfonato-fenil-azo)-1-naftil-azo]-naftaleno-1,7-dissulfonato tetrassódico); Carmoisina (nome químico: 4-hidróxi-3-(4-sulfonato-1-naftila-azo)-naftaleno-1-sulfonato dissódico); Amaranth (nome químico: 2-hidróxi-1-(4-sulfonato-1-naftil-azo) naftaleno-3,6-dissulfonato trissódico); e misturas dos mesmos.

Outras moléculas altamente polares, que podem ser utilizadas como o agente aumentativo da compressibilidade, incluem agentes ativos adicionais dos mesmos. Por exemplo, os versados na técnica sabem bem
 25 que certas classes de produtos farmacêuticos, tais como fármacos antipsicóticos, são altamente polares por natureza e podem ser utilizados como um agente aumentativo da compressibilidade, de acordo com esta invenção.

A faixa de concentração utilizável para o surfactante selecionado depende, em parte, de não apenas seu peso molecular, mas também seu
 30 grau de espumação, particularmente quando presente em pastas fluidas sob agitação, que serão atomizadas para formar o particulado desejado. Assim sendo, nos aspectos da invenção nos quais surfactantes que não o lauril-

sulfato de sódio são coprocessados com o treonato de magnésio, entende-se que o surfactante deve estar presente em uma quantidade que intensifica a compressibilidade do treonato de magnésio e não tem ainda um grau de espumação que inibiria substancialmente a atomização.

5 Em uma modalidade que utilize um processo de atomização, uma dispersão aquosa de treonato de magnésio e um agente aumentativo da compressibilidade (por exemplo, um surfactante ou dióxido de silício), é combinada com um volume suficiente de ar quente para produzir evaporação e secagem das gotículas de líquido. A pasta fluida altamente dispersada
10 é bombeável e capaz de ser atomizada. Ela é borrifada para dentro de uma corrente de ar filtrado morno que supre o calor para evaporação e transporta um produto seco até um dispositivo coletor. O ar é então esgotado com a umidade removida. As partículas de pó atomizadas podem ter um formato aproximadamente esférico e podem ter um tamanho uniforme, possuindo
15 desta forma excelente fluidez. As partículas coprocessadas não são necessariamente uniformes ou homogêneas. Outras técnicas de secagem tais como secagem instantânea (*flash*), secagem anelar, secagem "*micron*", secagem em bandejas, secagem a vácuo, secagem por radiofrequência, e possivelmente secagem por micro-ondas, também podem ser usadas.

20 Alternativamente, a totalidade ou parte do excipiente pode ser submetida a uma granulação a úmido com um ingrediente ativo. Uma granulação a úmido representativa inclui carregar as partículas do excipiente inusitado dentro de um granulador apropriado, tais como aqueles disponíveis na Baker-Perkins, e granular as partículas junto com o ingrediente ativo, de preferência usando um líquido de granulação aquoso. Em algumas modalidades,
25 uma parte da quantidade total do excipiente inusitado é granulada a úmido com o ingrediente ativo, e depois disso a parte adicional do excipiente inusitado é adicionada ao granulado. Em ainda outras modalidades, a parte adicional do excipiente inusitado a ser adicionada ao excipiente/ingrediente
30 granulado ativo pode ser substituída por outros excipientes usados comumente pelos versados na técnica, dependendo do curso após os requisitos da formulação específica.

Em outras modalidades da invenção, um outro material é adicionado ao treonato de magnésio e/ou agente aumentador da compressibilidade. Tais materiais adicionais incluem dióxidos de silício, óxidos de metais diferentes de silício, amidos, derivados de amidos, surfactantes, óxidos de poli-alquilenos), éteres de celulose, ésteres de celulose, misturas dos mesmos, e similares. Os outros materiais específicos que podem ser incluídos na pasta fluida aquosa (e consequentemente no excipiente de celulose microcristalina aglomerada resultante) são óxido de alumínio, ácido esteárico, caulim, polidimetilsilixano, sílica-gel, dióxido de titânio, terra diatomácea, amido de milho, amido de milho com alto teor de amilose, amido de milho com alto teor de amilopectina, glicolato de amido sódico, amido hidroxilado, amido de batata modificado, misturas dos mesmos, e similares. Estes aditivos podem ser incluídos nas quantidades desejadas que devem ficar evidentes para os versados na técnica.

Além de um ou mais ingredientes ativos, excipientes farmacêuticamente aceitáveis adicionais (no caso de produtos farmacêuticos) ou outros aditivos conhecidos pelos versados nessas técnicas (para aplicações não-farmacêuticas) podem ser adicionados ao excipiente inusitado antes da preparação do produto final. Por exemplo, caso desejado, qualquer material (diluente) de carga farmacêutica inerte solúvel ou insolúvel genericamente aceito pode ser incluído no produto final (por exemplo, uma forma de dosagem sólida). Tal carga farmacêutica inerte pode compreender um monossacarídeo, um dissacarídeo, um álcool poli-hídrico, fosfatos, sulfatos ou carbonatos inorgânicos e/ou misturas dos mesmos. Os exemplos de cargas farmacêuticas inertes incluem sacarose, dextrose, lactose, xilitol, frutose, sorbitol, fosfato de cálcio, sulfato de cálcio, carbonato de cálcio, celulose microcristalina, misturas dos mesmos, e similares.

Uma quantidade eficaz de qualquer lubrificante farmacêutico genericamente aceito, incluindo os sabões de cálcio ou magnésio podem ser opcionalmente adicionados ao excipiente inusitado na hora em que o medicamento é adicionado, ou em qualquer caso antes da compressão para dar uma forma de dosagem sólida. O lubrificante pode compreender, por exem-

plo, estearato de magnésio em qualquer quantidade de cerca de 0,5-3% em peso da forma de dosagem sólida. Em certas modalidades nas quais um surfactante é incluído como parte ou totalidade do agente aumentador da compressibilidade, um lubrificante de inclusão adicional pode não ser necessário.

A mistura completa, em uma quantidade suficiente para fabricar um lote uniforme de comprimidos, pode ser então submetida à prensagem para dar comprimidos em uma máquina de prensagem de comprimidos convencional em escala de produção em pressões de compressão normais para essa máquina, por exemplo, cerca de 105,5-703,0 kg/cm² (1.500-10.000 lb/in²). A mistura não deve ser prensada até um grau tal que haja dificuldade subsequente na sua hidratação exposta ao suco gástrico.

O tamanho médio dos comprimidos no caso de comprimidos redondos é, de preferência, cerca de 50 mg a 500 mg e no caso de comprimidos com formato de cápsulas cerca de 200 mg a 2.000 mg. Entretanto, outras formulações preparadas de acordo com a presente invenção podem ser adequadamente modeladas para outros usos ou locais, tais como outras cavidades do corpo, por exemplo, bolsas periodontais, feridas cirúrgicas, por via vaginal e retal. Contempla-se que em certos usos, por exemplo, comprimidos antiácidos, comprimidos vaginais e possivelmente implantes, o comprimido seja maior.

O agente ativo ou agentes ativos que podem ser incorporados com o excipiente inusitado aqui descrito em formas de dosagens sólidas da invenção incluem agentes terapêuticos por via sistêmica, agentes terapêuticos locais, agentes desinfetantes, produtos químicos impregnantes, agentes de limpeza, desodorantes, fragrâncias, corantes, repelentes de animais, repelentes de insetos, agentes fertilizantes, pesticidas, herbicidas, fungicidas, e estimulantes do crescimento de plantas, e similares.

Uma ampla série de agentes terapeuticamente ativos pode ser usada em conjunto com a presente invenção. Os agentes terapeuticamente ativos (por exemplo, agentes farmacêuticos) que podem ser usados nas composições da presente invenção incluem fármacos solúveis em água e

insolúveis em água. Os exemplos destes agentes terapeuticamente ativos incluem anti-histamínicos (por exemplo, dimenidrinato, difenidramina, clorfeniramina e maleato de dexclorfeniramina), analgésicos (por exemplo, aspirina, codeína, morfina, diidromorfona, oxycodona, etc.), agentes anti-inflamatórios antiesteroidais (por exemplo, naproxina, diclofenaco, indometacina, ibuprofeno, sulindaco), antieméticos (por exemplo, metoclopramida), antiepilépticos (por exemplo, fenitoína, meprobamato e nitrazepam), vasodilatadores (por exemplo, nifedipina, papaverina, diltiazem e nicardirina), agentes antitussígenos e expectorantes (por exemplo, fosfato de codeína), anti-asmáticos (por exemplo, teofilina), antiácidos, antiespasmódicos (por exemplo atropina, escopolamina), antidiabéticos (por exemplo, insulina), diuréticos (por exemplo, ácido etacrínico, bendrofluazida), anti-hipotensivos (por exemplo, propranolol, clonidina), anti-hipertensivos (por exemplo, clonidina, metildopa), broncodilatadores (por exemplo, albuterol), esteróides (por exemplo, hidrocortisona, triancinolona, prednisona), antibióticos (por exemplo, tetraciclina), anti-hemorroidais, hipnóticos, psicotrópicos, antidiarréicos, mucolíticos, sedativos, decongestionantes, laxantes, vitaminas, estimulantes (incluindo supressores de apetite tais como fenilpropanolamina). A lista acima não é exclusiva.

Uma ampla série de agentes localmente ativos pode ser usada em conjunto com o excipiente inusitado aqui descrito, e incluem agentes solúveis em e insolúveis em água. Os agentes localmente ativos que podem ser incluídos na formulação com liberação controlada da presente invenção pretendem exercer seu efeito no ambiente de uso, por exemplo, a cavidade oral, embora em alguns casos o agente ativo possa ter também atividade sistêmica por intermédio de absorção para dentro do sangue por intermédio da mucosa circundante.

Os agentes localmente ativos incluem agentes antifúngicos (por exemplo, anfotericina B, clotrimazol, nistatina, cetoconazol, miconazol etc.), agentes antibióticos (penicilinas, cefalosporinas, eritromicina, tetraciclina, aminoglicosídeos etc.), agentes antivirais (por exemplo, aciclovir, idoxurridina etc.), refrescantes do hálito (por exemplo, clorofila), agentes antitussíge-

nos (por exemplo, cloridrato de dextrometorfano), compostos anticariogênicos (por exemplo, sais metálicos de fluoreto, monoflúor-fosfato de sódio, fluoreto estanoso, fluoretos de aminas), agentes analgésicos (por exemplo, salicilato de metila, ácido salicílico etc.), anestésicos locais (por exemplo, benzocaína), antissépticos orais (por exemplo, clorexidina e sais dos mesmos, hexilresorcinol, cloreto de dequalínio, cloreto de cetilpiridínio), agentes anti-inflamatórios (por exemplo, dexametasona, betametasona, prednisona, prednisolona, triancinolona, hidro cortisona etc.), agentes hormonais (oestriol), agentes antiplacas (por exemplo, clorexidina e seus sais, octenidina, e misturas de timol, mentol, salicilato de metila, eucaliptol), agentes redutores de acidez (por exemplo, agentes de tamponamento tais como fosfato de potássio dibásicos carbonato de cálcio, bicarbonato de sódio, hidróxido de sódio e potássio etc.), e dessensibilizadores dentais (por exemplo, nitrato de potássio). Esta lista não pretende ser exclusiva. As formulações sólidas da invenção podem incluir também outros agentes localmente ativos, tais como saporíferos e edulcorantes. Geralmente, qualquer saporífero ou aditivo alimentício, tais como aqueles descritos em "Chemicals Used in Food Processing, publicação 1274 da National Academy of Sciences, páginas 63-258, pode ser usado. Genericamente, o produto final pode incluir entre cerca de 0,1% e cerca de 5% em peso de saporífero.

Os comprimidos da presente invenção podem conter também quantidades eficazes de agentes colorantes, (por exemplo, dióxido de titânio, corantes F.D. & C. e D. & C.; vide "The Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology", Volume 5, páginas 857-884, aqui incorporado como referência), estabilizadores, aglutinantes, agentes controladores de odores, e conservantes.

Alternativamente, o excipiente inusitado pode ser utilizado em outras aplicações nas quais ele não é prensado. Por exemplo, o granulado pode ser misturado com um ingrediente ativo, e a mistura é então encapsulada dentro de cápsulas. O granulado pode ainda ser moldado em outros formatos que não aqueles tipicamente associados a comprimidos. Por exemplo, o granulador junto com o ingrediente ativo pode ser moldados para

"encaixar" dentro de uma área específica em um ambiente de uso (por exemplo, um implante). Todos esses usos devem ser contemplados pelos versados nessas técnicas e julgados como estando englobados dentro do âmbito das reivindicações apensadas.

- 5 Em outras modalidades da invenção, mais do que um agente aumentativo da compressibilidade é usado. Assim sendo, por exemplo, são usados dois ou mais agentes aumentativos da compressibilidade que proporcionam um efeito por diferentes mecanismos.

EXEMPLOS

10 Exemplo 1: Preparação de Treonato de Magnésio

- Treonato de cálcio foi primeiro preparado a partir de 264 g (1,5 mol) de vitamina C, 300 g (3 moles) de carbonato de cálcio, e 600 mL de H₂O₂ a 30% em volume, de acordo com o procedimento descrito em Wei *et al.*, *J. Org. Chem.* 50, 3462-3467 (1985). O treonato de cálcio assim preparado foi
- 15 redissolvido em ~3 L de água a ~90 °C. A solução resultante foi resfriada até ~50 °C e depois vertida através de uma coluna com 7 cm (3") de diâmetro recheada com ~3 L de resina fortemente ácida Amberlite IR-120 pura, enquanto a coluna era eluída continuamente com água. As frações que contêm ácido treônico com pH menor do que cerca de 4,5 foram coletadas. As fra-
- 20 ções de ácido treônico foram combinadas (~7 a ~8 L) e agitadas a ~50 a ~60 °C. Adicionou-se Mg(OH)₂ em pó ao ácido treônico em pequenas porções até que o pH atingisse 7. A solução resultante foi filtrada e concentrada por evaporação rotativa a ~50 °C até um volume final de ~700 a ~800 mL. A so-
- 25 lução concentrada foi resfriada até a temperatura ambiente, filtrada para remover quaisquer traços de quantidades de materiais insolúveis, e depois transferida para um frasco redondo de 5-L com três gargalos, e agitada mecanicamente. Cerca de 4 L de metanol foram adicionados à solução resul-
- 30 tante para precipitar um produto sólido branco, treonato de magnésio. O sólido foi coletado por filtração sob sucção e depois secado sob alto vácuo a 50 °C por 2 dias, para produzir 194 g de treonato de magnésio como um sólido branco. Uma análise elementar indicou que o material continha um mol de água para cada mol de treonato de magnésio.

Exemplo 2: Comparação de Sabor

Em um teste duplo-cego, cada um dos dezesseis voluntários humanos, 9 homens e 7 mulheres, variando de idade entre 20 e 22 anos, recebeu um copo de uma composição, Composição 1, que compreende leite desnatado com uma mistura que compreende 50% em peso de gliconato de magnésio, 25% em peso de lactato de magnésio, e 25% em peso de citrato de magnésio, tendo uma concentração total de 50 mM de magnésio elementar associado com a mistura, e um vidro de uma composição, Composição 2, que compreende leite desnatado e gliconato de magnésio, tendo uma concentração total 50 mM de magnésio elementar associado com o gliconato de magnésio. Cada um dos voluntários foi solicitado a provar as duas composições e afirmar sua preferência por uma ou outra ou nenhuma das duas. A maioria dos indivíduos (87,5%) preferiu a Composição 1 e uma minoria dos indivíduos (12,5%) preferiu a Composição 2, como representado graficamente na figura 1.

Exemplo 3: Intensificação da Taxa de Absorção de Magnésio

Cinquenta ratos Sprague-Dawley (SD) machos com 3 meses de idade foram divididos em cinco grupos de dez ratos. Ratos com esta idade e mais velhos são considerados adultos. Cada um dos ratos foi colocado em uma gaiola metabólica separada equipada com poços coletores de urina e fezes. Todos ratos foram mantidos em uma sala com temperatura controlada (22 °C a 25 °C) com um período de escuridão entre 20h00min 8h00min diariamente. Entre o Dia 1 até o Dia 3, cada rato foi alimentado diariamente com 15 g de ração isenta de magnésio e água desmineralizada. Entre o Dia 4 até o Dia 10, cada rato foi alimentado diariamente com 15 g de uma ração isenta de magnésio e uma das cinco composições diferentes, Composições 1-4 e uma Composição de Controle, contendo gliconato de magnésio 12 mM em um meio diferente, dependendo do seu grupamento em um dos cinco grupos, Grupos 1-4 e um Grupo de Controle. O meio era leite desnatado para a Composição 1 e no Grupo 1, leite preparado a partir de leite em pó, diluindo o leite em pó com água para obter uma composição similar àquela de leite desnatado, para a Composição 2 e Grupo 2, 1% de nata de leite em

água para a Composição 3 e Grupo 3, água compreendendo 5% em peso de lactose para a Composição 4 e Grupo 4, e água para a Composição de Controle e Grupo de Controle. O volume médio de solução de gliconato de magnésio que foi consumido diariamente foi de cerca de 35 mL, correspondente a uma dosagem de magnésio elementar associada com o composto de contra-íon de magnésio ("dosagem de magnésio elementar"), neste caso, gliconato de magnésio, de cerca de 10 mg/dia/rato. Entre o Dia 11 até o Dia 12, cada rato foi alimentado diariamente com 15 g de ração isenta de magnésio e água desmineralizada.

Entre o Dia 4 até o Dia 10, a urina de cada rato foi coletada diariamente. A urina coletada de cada rato foi então reunida e o volume total da urina reunida de cada rato foi registrado. A urina reunida de cada rato, em uma quantidade de 500 mL, foi analisada quanto ao teor de magnésio usando um espectrômetro de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente (ICP-AES). Entre o Dia 5 e o Dia 11, as fezes de cada rato foram coletadas diariamente. As fezes coletadas de cada rato foram reunidas e as fezes reunidas foram pesadas e homogeneizadas. As fezes reunidas de cada rato, em uma quantidade de 0,5 g, foram analisadas quanto ao teor de magnésio usando um ICP-AES.

Uma fórmula foi usada para calcular a taxa de absorção de magnésio para cada rato. A fórmula usada foi $Y = AX - B$, onde X era a ingestão diária total média de magnésio, Y era a quantidade diária líquida média de magnésio absorvida, calculada por X menos a quantidade diária média de magnésio excretada pelas fezes, B era a quantidade diária média de magnésio excretada pelas fezes quando a ingestão de magnésio era zero, e a inclinação A representava a taxa de absorção de magnésio. Os pontos de dados (X, Y) associados a cada rato em cada grupo de dez ratos, com a exceção dos melhores pontos e dos piores pontos, foram plotados. O valor de A, a taxa de absorção de magnésio, associada a cada um dos Grupos 1-4, e assim sendo, a cada uma das Composições 1-4, foi então obtida usando regressão linear. O valor de A, a taxa de absorção de magnésio, associada com o Grupo de Controle, e assim sendo, ao Grupo de Controle e à Compo-

sição de Controle, também foi obtida por regressão linear, rotulada desta vez como A_0 .

Uma fórmula foi usada para calcular a intensificação percentual da taxa de absorção de magnésio para cada uma das Composições 1-4, baseado na taxa de absorção de magnésio para cada uma das Composições 1-4, respectivamente, em relação à taxa de absorção de magnésio para a Composição de Controle. A fórmula usada foi $[(A-A_0)/A_0] \times 100\%$. As taxas de absorção de magnésio associadas a cada uma das Composições 1-4 foram todas intensificadas em relação àquela para a Composição de Controle, como representado graficamente na figura 2.

Exemplo 4: Intensificação da Taxa de Absorção de Magnésio

Uma mistura of 50% em peso de gliconato de magnésio, 25% em peso de lactato de magnésio, e 25% em peso de citrato de magnésio foi dissolvida em água para produzir uma Composição de controle, Composição de Controle, tendo uma concentração total de magnésio elementar de 50 mM associada com a mistura. Uma mistura de 50% em peso de gliconato de magnésio, 25% em peso de lactato de magnésio, e 25% em peso de citrato de magnésio foi dissolvido em leite desnatado para promover a composição, Composição 1, tendo uma concentração total de magnésio elementar de 50 nM associada com a mistura. A taxa de absorção de magnésio em ratos foi determinada para cada composição na maneira enunciada no Exemplo 3. A taxa de absorção de magnésio associada com cada composição é representado graficamente na figura 3. como ilustrado, a taxa de absorção de magnésio associada com a composição 1 foi melhor do que a associada com a composição de controle.

Exemplo 5: Taxa de absorção de magnésio-comparação em diferentes dosagens

Uma comparação da taxa de absorção de magnésio em ratos, determinada da maneira enunciada no Exemplo 3, foi feita para três composições diferentes, cada uma baseada em um certo composto de contra-íon de magnésio e um certo meio. A Composição 1 baseou-se em cloreto de magnésio e água; a Composição 2 baseou-se em gliconato de magnésio e

leite desnatado; e a Composição 3 baseou-se em gliconato de magnésio e água compreendendo 5% em peso de lactose. Cada uma das Composições 1, 2 e 3 foi preparada em duas concentrações diferentes de magnésio elementar, uma proporcionando uma concentração total 12 mM de magnésio elementar associado com o composto de contra-íon de magnésio, o que correspondia a uma ingestão ou dosagem total de magnésio elementar de 10 mg/dia/rato, e a outra proporcionando uma concentração total 36 mM de magnésio elementar associado com o composto de contra-íon de magnésio, o que correspondia a uma ingestão ou dosagem total de magnésio elementar de 30 mg/dia/rato. Uma taxa de absorção de magnésio em ratos foi determinada para cada composição em cada nível de concentração da maneira enunciada no Exemplo 3. A taxa de absorção de magnésio associada com cada composição em cada nível de concentração está representada graficamente na figura 4. Como ilustrado, a taxa de absorção de magnésio associada com cada uma das Composições 2 e 3 foi mais alta do que aquela associada à Composição 1.

Exemplo 6: Taxa de absorção de magnésio – Comparação em Diferentes Dosagens

Uma comparação da taxa de absorção de magnésio em ratos, determinada da maneira enunciada no Exemplo 3, foi feita para duas composições diferentes, cada uma baseada em uma certa composição de contra-íon de magnésio e um certo meio. A Composição 1 baseou-se em cloreto de magnésio e água, e a Composição 2 baseou-se em treonato de magnésio e água. Cada uma das Composições 1 e 2 foi preparada em duas concentrações diferentes de magnésio elementar, uma proporcionando uma concentração total 12 mM de magnésio elementar associado com o composto de contra-íon de magnésio, o que correspondia a uma ingestão ou dosagem total de magnésio elementar de 10 mg/dia/rato, e a outra proporcionando uma concentração total 36 mM de magnésio elementar associado com o composto de contra-íon de magnésio, o que correspondia a uma ingestão ou dosagem total de magnésio elementar de 30 mg/dia/rato. Uma taxa de absorção de magnésio em ratos foi determinada para cada composição em

cada nível de concentração da maneira enunciada no Exemplo 3. A taxa de absorção de magnésio associado com cada composição em cada nível de concentração está representada graficamente na figura 5. Como ilustrado, a taxa de absorção de magnésio associado à Composição 2 foi maior do que aquela associada à Composição em cada um dos níveis de ingestão, mais significativamente assim no nível mais alto de ingestão.

Exemplo 7: Medições da Concentração Sanguínea de Magnésio

Doze ratos Sprague Dawley (D) machos com 3 meses de idade foram divididos em quatro grupos de três ratos. Cada um dos ratos foi colocado em uma gaiola metabólica separada, sendo cada uma delas mantida em uma sala com temperatura controlada (22 °C a 25 °C) com um período de escuridão entre 20h00min e 8h00min diariamente. Cada um dos ratos foi alimentado diariamente com 15 g de ração sólida normal em um líquido diferente, dependendo do seu grupo em um dos quatro grupos, por três dias.

Um líquido de cloreto de magnésio em água, composição 1, foi usada para o Grupo 1; treonato de magnésio em água, Composição 2, para o Grupo 2; uma mistura de 50% em peso de gliconato de magnésio, 25% e peso de lactato de magnésio, e 25% em peso de citrato de magnésio em leite desnatado, composição 3, para o Grupo 3; e água desmineralizada, composição de controle, para o Grupo de controle. Cada um dos líquidos, que não aquele para o Grupo de controle, era de 35 mM de magnésio elementar associado com o composto em questão de contra-íon de magnésio, cloreto de magnésio para o Grupo 1 ou treonato de magnésio para o Grupo 2, ou a mistura dos compostos de contra-íon de magnésio para o Grupo 3. Depois de três dias de alimentação como descrito acima, cerca de 200 µL de sangue foram coletados pela veia retrobulbar de cada rato. Cada uma das amostras de sangue foi deixada coagular à temperatura ambiente durante a noite, e depois centrifugada para separar o soro do fator de coagulação, e depois analisada quanto à concentração de magnésio, usando um espectrômetro de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP-MS). A concentração média de magnésio no soro associada a cada uma das Composições 1-3 e à Composição de Controle, respectivamente, está ilustrada na figura 6. Como

ilustrado, a concentração de magnésio no soro associada à Composição 2 foi maior do que aquela associada à Composição 1, Composição 2, e Composição de Controle.

Exemplo 8: Medições da Capacidade de Memória de Aprendizado

5 Um grupo de 10 camundongos foi geneticamente alterado para apresentar sintomas de doença de Alzheimer (AD) foi alimentado com uma Dieta de Mg, uma dieta de ração sólida normal e uma solução de treonato de magnésio e água, por 30 dias. A concentração de treonato de magnésio na
10 solução foi tal que o consumo de uma quantidade normal da solução correspondesse a uma ingestão total de magnésio elementar associado com o treonato de magnésio de cerca de 3 mg/dia/camundongo. Outro grupo, o grupo de controle, de 10 camundongos que foi geneticamente alterado para apresentar sintomas de AD foi alimentado com uma Dieta de Controle, uma dieta de ração sólida normal e água, por 30 dias.

15 No dia final dos 30 dias de dieta, como descrito acima, cada grupo de camundongos foi treinado e testado de acordo com o teste de labirinto aquático de Morris modificado (Morris *et al.*, *Nature* 297, 681-683 (1982)), como agora descrito. A piscina usada foi uma piscina de água em um tanque metálico circular (150 cm de diâmetro e 50 cm de profundidade),
20 tendo uma altura de água de 30 cm e uma temperatura da água mantida a ~22 °C. A piscina foi colocada em uma área moderadamente iluminada e circundada por uma cortina preta. Uma plataforma acrílica (15 cm de diâmetro) foi colocada 2 cm abaixo da superfície da água no meio de um quadrante da piscina, equidistante do centro e da borda da piscina. Fora da piscina,
25 uma pista foi colocada de modo a ficar visível para um camundongo no labirinto, permitindo que um camundongo a usasse como um marco para orientação espacial. A pista permaneceu inalterada no período do teste inteiro.

No primeiro dia de treinamento e período de teste, a água na piscina era transparente, de tal modo que a plataforma ficasse visível. Cada
30 camundongo foi treinado para nadar na direção da plataforma e ficar em pé sobre a plataforma de modo a não submergir na piscina. Cada camundongo passou por uma tentativa, seguido de um intervalo de 1 hora, seguido de

outra tentativa, e assim por diante, para um total de 5 tentativas. Em cada tentativa, o camundongo em questão era colocado com a mão dentro da piscina de água em uma posição inicial ou solta que foi selecionada aleatoriamente a partir de três posições iniciais possíveis. O camundongo precisava encontrar a plataforma de modo a não afundar na piscina. Caso o camundongo encontrasse a plataforma, ele era deixado ficar por três 30 segundos antes que ele fosse devolvido para sua gaiola de estadia. A quantidade de tempo que o camundongo levou para encontrar a plataforma, referida como "latência de escape", foi registrada para cada tentativa.

No segundo dia de treinamento do período de teste, uma pequena quantidade de leite foi adicionada à água na piscina, de tal modo que a piscina ficasse opaca e a plataforma não ficasse mais visível. Cada camundongo passou por um tentativa, seguida de um intervalo de 1 hora, seguido de outra tentativa, e assim por diante, para um total de 5 tentativas. Cada tentativa foi como descrita para o primeiro dia do período de treinamento e teste. Depois que novamente, cada camundongo em questão colocado na piscina precisou para encontrar a plataforma de modo a não afundar na piscina. A quantidade de tempo que o camundongo levou para encontrar a plataforma, ou latência de escape, foi registrada e considerada como uma medida da capacidade de memória espacial de curto prazo e aprendizado do camundongo. Uma medição da latência de escape mais baixa estava associada a uma melhor capacidade de aprendizado e memória. Caso o camundongo fosse incapaz de encontrar a plataforma dentro de 90 segundos, ele era guiado até e colocado sobre ela por 30 segundos, após a tentativa foi encerrada e o camundongo recebeu uma pontuação máxima de latência de escape de 90 segundos para a tentativa.

Os dois grupos de camundongos passaram por mais dias de treinamento e teste da maneira descrita acima para o segundo dia do período de treinamento e teste. Uma latência de escape média associada às cinco tentativas foi calculada para cada grupo de camundongos para cada um dos dias 2-6 do período de treinamento e teste. Uma representação gráfica destes resultados de latência de escape média foram plotados contra o dia

associado do período de treinamento e teste está ilustrada na figura 7B. Como ilustrado, à medida que os dias em treinamento e teste aumentavam, a latência de escape média diminuía para cada grupo de camundongos. Como também ilustrado, no terceiro dia e depois do terceiro dia do período de treinamento e teste, os camundongos no grupo da dieta fortificada com magnésio superaram os camundongos no grupo de controle.

Exemplo 9: Medições de Melhoras na Capacidade de Memória Espacial de Curto Prazo

Vinte ratos Sprague-Dawley (SD) machos com 2 meses de idade foram alojados em uma sala com temperatura controlada (22 °C a 25 °C) com um período de escuridão de 20h00min às 8h00min diariamente. Cada um dos ratos foi alimentado diariamente com uma dieta de ração sólida normal e água potável em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. Cada rato foi testado de acordo com uma versão do teste de labirinto em T (Dudchenko, *Behav. Neurosci.* 115, 850-860 (2001)), que envolve um labirinto localizado um metro acima do piso de um laboratório bem iluminado, que continha várias pistas distais salientes extras do labirinto, que serviram como marcos para os ratos durante o teste. Mais de 7 dias antes de iniciar o período de treinamento e tentativas, cada rato foi manuseado e aclimatado ao labirinto e ao cereal Kellogg's Froot Loop.

Em um período de treinamento e tentativas de oito dias, cada rato foi alimentado diariamente com uma dieta de ração sólida normal e água potável em um programa restrito de alimentação de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. Cada rato passou por um teste de uma tentativa, seguido de um intervalo de 10-minutos, seguido de outra tentativa, e assim por diante, para um total de 6 tentativas em um dia. Em cada tentativa, cada rato examinou uma corrida como amostra no labirinto, seguida de um intervalo de 15 segundos, e em seguida, uma corrida de escolha no labirinto. Na corrida de amostra, o rato em questão foi forçado a ir para a esquerda ou para a direita pela presença de um bloco, de acordo com uma sequência pseudoaleatória (com um número igual de curvas para a esquer-

da e curvas para a direita, e não mais do que duas curvas consecutivas na mesma direção). Como premiação, o cereal Froot Loop ficou disponível no poço de alimentação no final da corrida, independentemente da direção que foi tomada em virtude do bloco. Na corrida de escolha, o bloco que esteve
 5 presente na corrida de amostra precedente foi removido, e o rato foi deixado escolher para ir para a esquerda ou para a direita. Como premiação, o cereal Froot Loop estava disponível no poço de comida no final da corrida, apenas quando o rato tinha feito uma "escolha correta" escolhendo a direção oposta àquela tomada na corrida de amostra precedente. Depois de 8 dias do perí-
 10 odo de treinamento e tentativas, cada um dos ratos atingiu um nível de precisão de escolha assintótica, ou número de escolhas corretas por número de tentativas, de cerca de 90%, indicando uma capacidade igual para conquista de tarefas e memória de trabalho.

Os ratos, depois de treinados e testados como descrito acima,
 15 foram divididos em dois grupos de dez. Um grupo, o grupo de controle, foi alimentado com uma Dieta de Controle, a mesma dieta diária usada no período de treinamento e tentativas, que incluía ração sólida normal e água potável em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. O outro grupo foi alimentado com uma Dieta
 20 de Mg, a mesma dieta diária com a exceção de que uma solução de treonato de magnésio (55 mM) em água foi usada no lugar da água potável, em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. Em média, cada um dos ratos no último grupo bebeu cerca de 30 mL da solução diariamente, o que correspondia a uma ingestão
 25 total de magnésio elementar associado com o treonato de magnésio de cerca de 40 mg/dia/camundongo, ou cerca de 133 mg/kg em peso corporal/dia.

No primeiro dia (designado dia 0) de alimentação dos dois grupos, como já descrito, cada rato passou por um teste preliminar de uma tentativa, em seguida um intervalo de 10 minutos, em seguida outra tentativa, e
 30 assim por diante, para um total de 4 tentativas em um dia. Em cada trecho, cada rato passou por uma corrida de amostra no labirinto em T descrito acima, seguida de um intervalo de 15 segundos, seguido de uma corrida de

escolha no labirinto. Neste teste preliminar, o nível de precisão da escolha, ou proporção de escolhas corretas, c_0 , para o número de tentativas no teste, n_0 , foi determinada para cada rato. No quinto dia de alimentação dos dois grupos, de acordo com o esquema de alimentação descrito há pouco, cada

5 rato passou por outro teste, como descrito com relação ao teste preliminar, para confirmar que o rato ainda se lembrava de como completar as tentativas. No dia seguinte, o sexto dia (designado dia 6), e em cada sexto dia depois disso, de alimentação de acordo com o mesmo programa de alimentação, cada rato passou por 4 tentativas diárias, como descrito acima, com a

10 exceção que um intervalo de 5 minutos foi usado no lugar do intervalo de 15 segundos. Em cada dia (dia i) deste teste, o nível de precisão das escolhas, ou proporção de escolhas corretas feitas, c_i , para o número de tentativas no teste, n_i , foi determinado para cada rato. Adicionalmente, o aumento da porcentagem no nível de precisão de escolha em relação àquele determinado

15 no teste preliminar foi determinado para cada rato, de acordo com a fórmula enunciada abaixo.

$$\left(\frac{c_i / n_i - 0.5}{c_0 / n_0 - 0.5} - 1 \right) \times 100\%$$

O aumento de porcentagem no nível de precisão de escolha foi tomada como uma medida da melhora da memória de trabalho de curto prazo e capacidade de aprendizado do rato.

20 Uma média dos resultados da melhora de porcentagem associada a cada dia do teste depois do teste preliminar foi tomada para o grupo de controle de ratos e o outro grupo de ratos. Uma representação gráfica destas médias versus o número de dias sob a Dieta de Mg ou a Dieta de Controle está ilustrada na figura 7A. Como ilustrado, não houve qualquer diferença

25 significativa (valor de $p > 0,05$) nas médias associadas ao grupo de controle de ratos e as médias associadas ao outro grupo de ratos durante a primeira semana do teste. Depois disso, enquanto não havia uma grande quantidade de mudança nas médias associadas ao grupo de controle de ratos, houve um aumento significativo nas médias associadas a este último grupo de

30 ratos, como demonstrado pelas médias associadas ao dia 12 até o dia 24 de

ficar sob a Dieta de Mg, sendo que o dia 24 apresentou uma diferença de 73% (valor de $p < 0,05$).

Exemplo 10. Efeitos da Suplementação de Magnésio sobre a Memória de Reconhecimento

5 Neste exemplo, o efeito da suplementação de magnésio sobre a memória de reconhecimento foi testado. Três grupos de ratos foram usados nestes experimentos: (1) ratos jovens (três meses de idade); (2) ratos em envelhecimento (12-14 meses de idade); e (3) ratos em envelhecimento tratados com magnésio (12-14 meses de idade, dieta suplementada com 6
10 mg/kg de $MgCl_2$ a partir de 8 meses de idade). Foram usados experimentalmente ratos *naive* Sprague-Dawley fêmeos, jovens (2 meses de idade), em crescimento (12-14 meses de idade) e em envelhecimento (22-24 meses de idade) (Charles River) no início dos experimentos de comportamento. Eles foram alojados dois por gaiola com acesso contínuo a comida e água sob
15 um ciclo de 12 horas de iluminação e 12 horas de escuridão, com início da iluminação às 8h00min. Os níveis de Mg^{2+} no líquido cefalorraquidiano (CSF) nos ratos de controle e tratados com Mg foram determinados pelo método colorimétrico com azul de xilidila (Thomas, 1998) (Analytics Incorporated, MD). Todos experimentos que envolveram animais foram aprovados pelo
20 Massachusetts Institute of Technology's e Tsinghua University Committees on Animal Care.

Os três grupos de ratos foram testados quanto à memória de reconhecimento usando um teste de reconhecimento de objetos com uma única exposição ao objeto durante o treinamento. A tarefa baseia-se na tendência natural de roedores para explorar novos objetos e testa a capacidade
25 de memória dos animais para distinguir entre objetos inusitados e familiares. Este tipo de memória apresenta declínio associado à idade e se correlaciona com declínios na plasticidade sináptica.

Resumidamente, os ratos foram primeiramente habituados individualmente ao pessoal e depois à arena em campo aberto durante 2 semanas. Os ratos foram então deixados explorar dois objetos idênticos colocados dentro da arena em locais fixos até que eles tivessem acumulado 30 s

de tempo total de inspeção (onde isto é definido como exploração ativa, farejar ou tocar o objeto com o nariz e/ou patas dianteiras) ou por um máximo de 20 min. O rato foi devolvido para a arena para o teste de retenção e deixado explorar por mais 30 segundos. Os intervalos de retenção foram de 10 min e 24 horas. Os objetos foram limpos perfeitamente entre tentativas com solução de etanol a 20%, para assegurar a ausência de pistas olfativas. Os objetos específicos para uma dada tentativa foram determinados aleatoriamente, mas cada objeto foi usado apenas em uma tentativa por rato. A memorização do objeto familiar está associada a maior exploração do novo objeto e um índice de exploração (% de corretos) é calculado como nova inspeção de objeto/30.

Como ilustrado na figura 8, os ratos em envelhecimento apresentaram uma preferência mais baixa de exploração de objeto inusitado no intervalo de retenção de 10 minutos em comparação com ratos jovens e também em envelhecimento de ratos suplementados com magnésio. Isto indica que os ratos em envelhecimento têm um enfraquecimento de aprendizado/memória em comparação com ratos jovens. Estes resultados indicam também que os ratos em envelhecimento tratados com magnésio exploraram preferencialmente o objeto inusitado até o mesmo grau que os ratos jovens ($p < 0,0001$).

Depois de 24 horas, todos os grupos perdem habilidade de distinguir entre objetos inusitados e familiares. Durante a fase de treinamento (5 min), ambos grupos de ratos em envelhecimento apresentaram tempo de exploração similar para os dois objetos ($p > 0,4$). Isto indica que uma diferença no tempo de exploração não podia explicar as diferenças entre ratos em envelhecimento tratados com magnésio e não-tratados.

Exemplo 11. Efeitos da Suplementação de Magnésio em Líquido e Ração sobre a Consolidação da Memória

Neste exemplo, o efeito da suplementação de magnésio sobre a consolidação da memória foi estudado. Foram usadas duas sessões de treinamento separadas por 10 minutos, antes de começar os testes de retenção (figura 9). O treinamento, ratos e suplementação de magnésio foram condu-

zidos essencialmente como no Exemplo 10. Depois do treinamento espaçado, todos os três grupos de ratos (jovens, em envelhecimento e em envelhecimento suplementados com magnésio) apresentaram preferência similar pelo objeto inusitado no intervalo de retenção de 10 min, sugerindo que os ratos em envelhecimento ainda eram capazes de realizar a tarefa com múltiplas tentativas de treinamento. Entretanto, no intervalo de retenção de 24 horas, os ratos em envelhecimento não-tratados não apresentaram qualquer preferência pelo objeto inusitado ($p < 0,005$), enquanto que os ratos em envelhecimento tratados com magnésio retiveram um alto nível de preferência. Estes resultados demonstram a eficácia do tratamento com magnésio na prevenção do declínio de memória de reconhecimento dependente da idade em ratos em envelhecimento.

A intensificação da memória de curto prazo para os ratos que receberam suplementação de magnésio foi determinada também usando magnésio suplementado com lactose. Para estes experimentos, a mistura de magnésio descrita acima (gliconato de magnésio, lactato de magnésio e citrato de magnésio) e 5% de lactose foi adicionada à água potável dos ratos que estavam sendo testados (40 mg de magnésio/dia). Depois de uma semana de tratamento, a memória de curto prazo foi determinada usando o teste de reconhecimento de objeto inusitado, essencialmente como descrito no Exemplo 10. Este experimento imita os resultados da suplementação de magnésio em leite pois foi determinado que a lactose é o fator intensificador da captação no leite. Os resultados estão ilustrados na figura 11. Estes resultados demonstram que os ratos que receberam suplementação de magnésio gastam mais tempo examinando o objeto inusitado, sugerindo uma melhora da memória de curto prazo.

Em um experimento similar, os ratos foram alimentados com chocolate suplementado com treonato de magnésio. Os ratos tiveram acesso ilimitado à sua dieta normal. A água está disponível todas as horas, exceto durante os breves períodos de teste. Os ratos têm aproximadamente 6 meses de idade no início do experimento. Um distribuidor de péletes de 45 mg (ENV-203) e colocado atrás de cada recipiente de alimento. Os ratos têm

acesso aos péletes de chocolate suplementados com composição de magnésio, de tal modo que, quando consumidos, os péletes de chocolate proporcionarão 20-40 mg de magnésio elementar por dia.

Exemplo 12. Efeitos da Suplementação de Magnésio sobre a Memória de Trabalho Espacial

Três grupos de animais (ratos jovens, em envelhecimento e em envelhecimento tratados com magnésio) foram usados. Os animais e dietas foram como descrito no Exemplo 10. A memória de trabalho espacial foi avaliada usando uma tarefa não correspondendo ao lugar no labirinto em T. Resumidamente, os ratos foram mantidos em um programa de alimentação restrito a 85% do seu peso com alimentação livre. A memória de trabalho espacial foi primeiramente avaliada em um labirinto elevado. O labirinto foi colocado 1 m acima do piso em um laboratório bem iluminado, que continha várias pistas distais salientes extras do labirinto. Os ratos foram manuseados e habituados ao labirinto por 10 dias, e ao cereal Froot Loop® durante vários dias antes do teste. Cada tentativa consistiu em uma corrida de amostra e uma corrida de escolha, com intervalos de atraso de 15 s durante as tarefas de treinamento e das tarefas de completude padrão. Na corrida de amostra, os ratos foram forçados para esquerda ou para a direita pela presença do bloco, de acordo com uma sequência pseudoaleatória (com números iguais de curvas para a esquerda e direita por sessão, e com não mais do que duas curvas consecutivas na mesma direção). Uma premiação de cereal ficava disponível no poço de alimentação no final do ramal. O bloco foi então removido, e o rato foi deixado fazer uma escolha livre de qualquer um dos dois ramais. O animal foi premiado por escolher o ramal não visitado anteriormente. Os ratos correram uma tentativa de cada vez com um intervalo entre tentativas de 10 min. Cada sessão diária consistiu em 6 tentativas.

Os ratos foram testados por 10 dias consecutivos em uma alternância de tarefas de escolha forçada premiada. A porcentagem de escolhas (alternações) corretas foi registrada para cada sessão diária. Nos presentes experimentos, os animais usaram similarmente uma estratégia espacial, pois, quando o labirinto foi girado em 180°, os animais iam para o ramal pre-

visto por informações alocêntricas em vez de egocêntricas (dados não ilustrados). Os ratos em envelhecimento apresentaram aprendizado enfraquecido em tarefa não correspondendo ao lugar, em comparação com os ratos jovens (figura 10, quadro da esquerda, atraso de 15 segundos). Os ratos em

5 envelhecimento tratados com magnésio realizaram significativamente melhor suas primeiras tentativas ($p < 0,05$). Depois de 8 dias de treinamento, todos três grupos atingiram um nível de precisão de escolha assintótica de ~94%, sugerindo uma capacidade igual para conquista de tarefas. Depois, a memória de trabalho espacial foi testada por um aumento gradual do atraso

10 entre as tentativas de amostra e de escolha (figura 10, quadro da direita). Nenhuma diferença foi encontrada entre ratos jovens e em envelhecimento em todos diferentes atrasos ($p > 0,05$), enquanto que o tratamento com magnésio intensificou significativamente o desempenho de ratos em envelhecimento em atrasos de 2 e 5 min ($p < 0,05$). Assim sendo, embora a me-

15 mória de trabalho espacial avaliada por labirinto em T não declinasse com o envelhecimento, os ratos em envelhecimento tratados com magnésio intensificaram a memória de trabalho espacial e de curto prazo.

Exemplo 13. Efeitos do Treonato de Magnésio sobre o Aprendizado e Memória de Ratos Envelhecidos

20 Para testar se a ingestão de treonato de magnésio leva à melhora da memória de trabalho, o aprendizado e a memória de ratos envelhecidos (22 - 24 meses de idade) com profunda deficiência de memória foram examinados. Vinte e quatro ratos envelhecidos foram treinados para realizar o labirinto em T elevado (descrito no exemplo anterior) por 10 dias. Sua

25 memória de trabalho foi avaliada por precisão de escolhas entre as tentativas de amostra e escolha com atraso crescente. Para assegurar memória de trabalho similar em média entre grupos de controle e tratados com magnésio antes do início do tratamento com magnésio, os animais foram designados aleatoriamente para dois grupos no final de treinamento. Depois, a água potável dos ratos no grupo tratado com magnésio foi suplementada com treonato de

30 magnésio (100 mg/kg/dia). O efeito do tratamento com magnésio sobre a memória de trabalho dos ratos foi avaliada a cada seis dias (figura 7C).

A precisão de escolha declinou continuamente no grupo de controle durante amostragem repetida. Entretanto, 12 dias depois do início do tratamento com treonato de magnésio, a precisão de escolha associada com atrasos mais longos começou a aumentar no grupo tratado com magnésio e atingiu seu pico no dia 24 ($p < 0,05$, $N = 12$). Estes dados sugerem que o treonato de magnésio melhora a memória de trabalho.

Para determinar se o tratamento com Mg dispara a reversão do declínio de memória ou intensificação de memória geral, testou-se a eficiência do tratamento com Mg em ratos jovens (2 meses de idade). Usando procedimentos experimentais similares àqueles usados para ratos envelhecidos, os dados demonstram que o treonato de magnésio intensificou significativamente a memória de trabalho de ratos jovens no ponto de atraso de 5 min, comparado com um grupo de controle de ratos não-tratados com desempenho estável (figura 7C). Portanto, aumentar o consumo de magnésio genericamente intensifica a memória de trabalho de ratos jovens e envelhecidos.

Vinte ratos Sprague-Dawley (SD) machos com 2 meses de idade foram alojados em uma sala com temperatura controlada (22 °C a 25 °C) com um período de escuridão entre 20h00min e 8h00min diariamente. Cada um dos ratos foi alimentado diariamente com uma dieta de ração sólida normal e água potável em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. Cada rato foi testado de acordo com uma versão do teste de labirinto em T (Dudchenko, *Behav. Neurosci.* 115,850-860 (2001)), que envolve um labirinto localizado um metro acima do piso de um laboratório bem iluminado, que continha várias pistas distais extras salientes do labirinto, que serviram como marcos para os ratos durante o teste. Mais de 7 dias antes de iniciar o período de treinamento e tentativas, cada rato foi manuseado e habituado ao labirinto e ao cereal Kellogg's Froot Loop.

Em um período de treinamento e tentativas de oito dias, cada rato foi alimentado diariamente com uma dieta de ração sólida normal e água potável em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85%

do seu peso com alimentação livre. Cada rato passou por um teste e uma tentativa, seguido de um intervalo de 10 minutos, seguido de outra tentativa, a assim por diante, para seis tentativas em um dia. Em cada tentativa, cada rato passou por uma corrida de amostra no labirinto, seguida de um intervalo de 15 segundos, seguido de uma corrida de escolha no labirinto. Na corrida de amostra, o rato em questão foi forçado a ir para a esquerda ou para a direita pela presença de um bloco, de acordo com uma sequência pseudoaleatória (com um número igual de curvas para a esquerda e curvas para a direita, e não mais do que duas curvas consecutivas na mesma direção). Como prêmio, o cereal Froot Loop estava disponível no poço de alimentação no final da corrida, independentemente da direção tomada em virtude do bloco. Na corrida de escolha, o bloco que esteve presente na corrida de amostra precedente foi removido, e o rato foi deixado escolher ir para a esquerda ou para a direita. Como premiação, o cereal Froot Loop estava disponível no poço de alimentação o final de corrida, apenas quando o rato tinha feito uma "escolha correta" escolhendo a direção oposta àquela tomada na corrida de amostra precedente. Depois de 8 dias do período de treinamento e tentativa, cada um dos ratos atingiu um nível de precisão de escolha assintótico, ou número de escolhas corretas por número de tentativas, de cerca de 90%, indicando uma capacidade igual para conquista de tarefas e memória de trabalho.

The ratos, depois de treinados e testados como descrito acima, foram divididos em dois grupos de dez. Um grupo, o grupo de controle, foi alimentado com uma Dieta de Controle, a mesma dieta diária usada no período de treinamento e tentativa, que incluía ração sólida normal e água potável em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. O outro grupo foi alimentado com uma Dieta de Mg, a mesma dieta diária com a exceção que uma solução de treonato de magnésio (55 mM) em água foi usada no lugar da água potável, em um programa de alimentação restrito de modo a manter 85% do seu peso com alimentação livre. Em média, cada um dos ratos neste último grupo bebeu cerca de 30 mL da solução diariamente, o que correspondia a uma ingestão

total de magnésio elementar associado com o treonato de magnésio de cerca de 40 mg/dia/camundongo, ou cerca de 133 mg/kg de peso corporal/dia.

No primeiro dia (designado dia 0) da alimentação dos dois grupos, como descrito há pouco, cada rato passou por um teste preliminar de uma tentativa, seguido de um intervalo de 10 minutos, seguido de outra tentativa, assim por diante, para um total de quatro tentativas em um dia. Em cada trecho, cada rato passou por uma corrida de amostra no labirinto em T descrito acima, seguida de um intervalo de 5 minutos, seguido de uma corrida de escolha no labirinto. No quinto dia de alimentação dos dois grupos, de acordo com o esquema de alimentação descrito há pouco, cada rato passou por outro teste, como descrito com relação ao teste preliminar, para confirmar que o rato ainda se lembrava como completar as tentativas. No dia seguinte, o sexto dia (designado dia 6), e em cada sexto dia depois disso, de alimentação de acordo com o mesmo esquema de alimentação, cada rato passou por 4 tentativas diárias, como descrito acima. Em cada dia (dia *i*) deste teste, o nível de precisão de escolha, ou proporção de escolhas corretas feitas para o número de tentativas no teste, foi determinado para cada rato.

Uma média da precisão de escolha percentual associada a cada dia do teste depois do teste preliminar foi tirada para o grupo de controle de ratos e para o grupo de ratos tratados com Mg. A diferença entre os dois grupos versus o número de dias na Dieta de Magnésio ou Dieta de Controle está ilustrada na figura 7A. Como ilustrado, houve um aumento significativo nas médias associadas ao grupo de ratos tratados com magnésio, iniciando ao redor do dia 12 até o dia 24 estando na Dieta de Mg Diet, sendo que o dia 24 apresentou um aumento de 25% (valor de $p < 0,05$). Fenômenos similares ocorrem em animais envelhecidos (17 meses de idade) sob tratamento com magnésio (figura 7C).

Exemplo 14. Efeitos de Treonato de Magnésio sobre a Memória de Trabalho

Tendo sido demonstrada a intensificação da memória de trabalho pelo tratamento com magnésio, outros experimentos foram conduzidos para determinar se o treonato de magnésio levou à melhora da memória de

longo prazo em ratos jovens e envelhecidos, usando o labirinto aquático de Morris. Para estes experimentos, a água potável foi suplementada com treonato de magnésio (100 mg/kg/dia) nos grupos tratados com magnésio. Resumidamente, a tarefa do labirinto aquático de Morris foi usada para estudar o aprendizado e memória espaciais segundo a diferença distinta no teste de memória de trabalho no labirinto em T, foi observada, e o método é como descrito anteriormente, com modificações mínimas. A piscina era um tanque metálico circular com 150 cm de diâmetro e 50 cm de profundidade, enchido até uma altura de 30 cm com água. A temperatura da água foi mantida em ~22 °C. Uma plataforma acrílica (15 cm de diâmetro) foi colocada dentro da piscina, ficando sua superfície superior 2 cm abaixo da superfície da água, de tal modo que um rato dentro da piscina não pudesse ser capaz de localizá-la visualmente. A piscina colocada em um invólucro circular moderadamente iluminado com cortina preta, no qual havia várias pistas (duas para ratos jovens e quatro para ratos velhos) com formato e cor diferentes fora do labirinto. Elas eram visíveis de dentro da piscina e puderam ser usadas pelo rato para orientação espacial. Estas pistas permaneceram inalteradas durante o período de teste inteiro.

Os ratos jovens passam por um treinamento de 8 tentativas com um intervalo entre tentativas de 1 hora por um dia. No caso de ratos velhos, a sessão de treinamento foi dividida em dois dias, 5 tentativas para o dia 1, e 3 tentativas para o dia 2, e o intervalo entre tentativas é também de 1 hora. Cada rato foi colocado dentro da água com a mão, de tal modo que ele encarassem a parede da piscina, em uma de três posições iniciais. A sequência destas posições foi selecionada aleatoriamente. A plataforma foi instalada no meio de um quadrante, equidistante do centro e da borda da piscina. Caso o rato tenha encontrado a plataforma, ele foi deixado lá por 30 s e depois foi levado de volta para sua gaiola residencial. Caso o rato fosse incapaz de encontrar a plataforma dentro de 90 s, ele foi guiado e colocado sobre a plataforma por 30 s, a tentativa foi finalizada e a pontuação máxima de 90 s foi dada. Em cada tentativa, a latência de êxito para a plataforma escondida foi registrada usando um sistema de vídeo, Ethovision (Nadolus).

A tentativa de amostra (também o teste de retenção de memória) foi conduzida 1 hora (primeira tentativa de amostra) e 24 horas (segunda tentativa de amostra) depois da última tentativa da sessão de treinamento. Na tentativa de amostra, a plataforma foi removida e cada rato foi colocado dentro da piscina por 30s. O tempo total gasto no quadrante-alvo (onde a plataforma tinha sido colocada durante as tentativas de treinamento), bem como a velocidade de natação, foi medido usando o mesmo sistema de vídeo.

Depois de terminar a tentativa de amostra, os ratos recebem o teste de pista parcial para avaliar sua capacidade para recobrar as memórias na base de informações incompletas. Primeiramente, os ratos receberam uma reciclagem na qual a plataforma foi colocada de volta no mesmo local que a sessão de treinamento. Depois que os ratos lembraram a localização da plataforma, as pistas foram ajustadas de tal modo que apenas uma pista permanecesse no sistema experimental, e a latência de escape dos ratos nesta circunstância foi registrada. Depois, um teste com todas pistas foi conduzido e a latência de escape foi registrada.

Para estes experimentos, os ratos e dietas foram essencialmente iguais aos descritos no Exemplo 13. Durante o período de treinamento, o desempenho dos ratos de controle e tratados com treonato de magnésio melhorou nos grupos de ratos jovens e envelhecidos (figura 12). Entretanto, os ratos tratados com magnésio aprenderam mais rápido do que os ratos do controle (teste ANOVA, jovens: $F(7, 215) = 17,07$, $p < 0,001$, $n = 15$; velhos: $F(7, 215) = 17,11$, $p < 0,001$, $n = 15$).

Nos testes de amostra realizados 1 hora depois do final do treinamento (quando a plataforma foi removida e os ratos foram deixados procurando por 60 segundos), todos quatro grupos de ratos (jovens, jovens tratados com magnésio, velhos, velhos tratados com magnésio) apresentaram preferência pelo quadrante do treinamento (jovens, figura 13, quadro à esquerda, $p < 0,001$; velhos, figura 13, quadro à direita, $p < 0,001$), sugerindo que os grupos jovens e velhos são capazes de memorizar igualmente a localização da plataforma.

Para testar a memória espacial de longo prazo dos ratos, os testes de amostra foram retardados em 24 horas depois do treinamento. Os ratos de controle nos grupos jovens e velhos perderam sua preferência pelo quadrante de treinamento ($p > 0,25$), enquanto que os ratos jovens tratados com magnésio (figura 13, quadro à esquerda) e velhos (figura 13, quadro à direita) retiveram sua preferência pelo quadrante (ratos jovens: $p < 0,001$; ratos velhos: $p < 0,01$). As funções de visão e locomoção foram igualmente eficientes em ambos grupos de ratos, julgando pela velocidade de natação e latência de escape para uma plataforma visível (ratos jovens: $p = 0,83$; ratos velhos: $p = 0,84$). Assim sendo, estes resultados demonstram que o treonato de magnésio intensifica significativamente o aprendizado e memória dependente do hipocampo em ratos jovens e também velhos.

Outra função crucial de sistemas de memória biológica, que apresentam declínio profundo durante o envelhecimento é complementação padrão (PATCO) – a capacidade de recobrar memórias na base de informações incompletas. Foi estudada a dependência de recordação de memória espacial da integridade de pistas distais durante o teste de labirinto aquático. Os experimentos de *complementação padrão* foram realizados com ratos velhos que passaram pelo período de treinamento no labirinto aquático (Figura 14). Os ratos velhos tratados com magnésio realizaram melhor sob condições de pistas parciais do que os ratos velhos do controle no labirinto aquático (figura 14). Os ratos tratados com magnésio tiveram latência de escape similar em condições de pistas completas e pistas parciais no labirinto aquático ($p = 0,75$), onde a latência de escape de ratos velhos do controle aumentou significativamente sob condição de pista parcial (figura 14, $p < 0,05$). Estes resultados indicam que o tratamento com treonato de magnésio é eficaz em melhorar a recordação de memória em ratos velhos.

Exemplo 15. Efeitos do Treonato de Magnésio em um Modelo de Doença de Alzheimer (AD) no Rato

Neste exemplo, o potencial para o tratamento de doença de Alzheimer (AD) com treonato de magnésio foi analisado. Para estes experimentos, [os parâmetros de inserção de cepas de camundongos – incluem

controle, 6 meses/13 meses – neste caso] foram utilizados. Os camundongos com doença de Alzheimer (AD) receberam 3 mg/dia de magnésio elementar na forma de treonato de magnésio (MgT). Para estes experimentos, os camundongos foram testados usando o teste do labirinto aquático de Morris, essencialmente como descrito no exemplo anterior. Os resultados estão ilustrados na figura 15.

Durante o período de treinamento, o desempenho dos camundongos com AD de controle, e com AD tratados com treonato de magnésio melhorou gradualmente em camundongos jovens (figura 15, quadro A). Entretanto, os camundongos com jovens com AD tratados com MgT apresentaram uma progressão de aprendizado para camundongos do controle. Os camundongos velhos com AD não apresentaram qualquer melhora durante o período de treinamento; entretanto, os camundongos do controle e com AD tratados com MgT realmente apresentaram melhora durante o período de treinamento (figura 15, quadro C). Isto demonstra que o MgT é eficaz em contrabalançar os efeitos da doença de Alzheimer (AD) durante o processo de aprendizado em camundongos jovens e velhos.

Os camundongos jovens de controle, camundongos jovens com AD tratados com MgT, camundongos velhos de controle e camundongos velhos com AD tratados com MgT apresentaram preferência pelo quadrante de treinamento (figura 15, quadros B e D). Estes resultados indicam várias coisas. Primeiramente, os resultados sugerem que os grupos jovens e velhos são capazes de memorizar igualmente a localização da plataforma. Em segundo lugar, os resultados demonstram que o tratamento com MgT é capaz de contrabalançar os efeitos da AD sobre a memória espacial de longo prazo.

Exemplo 16. Comparação de Treonato de magnésio com Fármacos Anti-AD

Tendo sido demonstrada a eficácia do tratamento com MgT tratamento em contrabalançar os efeitos da doença de Alzheimer (AD), foi realizada uma comparação com outros fármacos anti-AD. Neste exemplo, a eficácia de treonato de magnésio em tratar AD foi comparada com a eficácia de outros fármacos anti-AD. Para estes experimentos, os camundongos

(com idade de 13 meses) e a suplementação com treonato de magnésio foram essencialmente como descrito no Exemplo 14. Dois fármacos anti-AD conhecidos, denominados aricept e memantina, foram administrados separadamente aos camundongos. Para estes experimentos, os camundongos foram testados quanto aos efeitos sobre a memória e aprendizado usando o teste do labirinto aquático de Morris, essencialmente como descrito no exemplo anterior. Os resultados estão ilustrados na figura 16.

Inicialmente, houve pouca diferença entre camundongos do tipo selvagem e com AD que receberam tratamento com qualquer um dos compostos em teste. Entretanto, os camundongos com AD tratados com MgT e memantina apresentaram efeitos similares, ambos sendo melhores em reduzir os efeitos de AD sobre a capacidade de aprendizado do que aricept (figura 16, quadros A e B).

Exemplo 17. Correlação entre Memória de Curto Prazo e Ingestão de Magnésio em Ratos Velhos

Neste exemplo, o efeito da suplementação de magnésio sobre a memória de reconhecimento foi testado em ratos em envelhecimento (12-14 meses de idade). Foram usados experimentalmente ratos Sprague-Dawley (Charles River) machos, *naive*, no início dos experimentos de comportamento. Eles foram alojados dois por gaiola com acesso contínuo à ração e água sob um ciclo de iluminação/escurecimento de 12:12 horas, com início da iluminação às 8h00min. A ingestão total de magnésio/rato foi determinada adicionando a soma do magnésio da ração e do suplemento magnésio (treonato de Mg) na sua água potável.

Os ratos foram testados quanto à memória de reconhecimento usando um teste de reconhecimento de objetos com uma única exposição ao objeto durante o treinamento. A tarefa baseia-se na tendência natural de roedores para explorar novos objetos e testa a capacidade de memória dos animais para distinguir entre objetos inusitados e familiares. Este tipo de memória apresenta declínio associado à idade e se correlaciona com declínios na plasticidade sináptica.

Resumidamente, os ratos foram em primeiro lugar habituados

individualmente ao pessoal e depois à arena em campo aberto durante 2 semanas. Os ratos foram então deixados explorar dois objetos idênticos colocados dentro da arena em locais fixos até que eles tivessem acumulado 30 s de tempo total de inspeção (onde isto é definido como exploração ativa, farejar ou tocar o objeto com o nariz e/ou patas dianteiras) ou por um máximo de 20 min. O rato foi devolvido para a arena para o teste de retenção e deixado explorar por mais 30 segundos. Os intervalos de retenção foram de 10 min para o teste de memória de curto prazo. Os objetos foram limpad

5
10

perfeitamente entre tentativas com solução de etanol a 20%, para assegurar a ausência de pistas olfativas. Os objetos específicos para uma dada tentativa foram determinados aleatoriamente, mas cada objeto foi usado apenas em uma tentativa por rato. A memorização do objeto familiar está associada a maior exploração do novo objeto.

Como ilustrado na figura 19, em comparação com os ratos no grupo de controle (denotados por quadrados vazados; $n = 10$), os animais sob tratamento com composto de Mg (denotados por quadrados cheios; $n = 9$) apresentam preferência de exploração mais alta por objeto inusitado, sugerindo a melhora da sua memória de curto prazo. O mais importante é que o grau de melhora está fortemente correlacionado com a quantidade de suplemento de Mg que eles ingerem ($p < 0,01$). Este experimento indica claramente que os animais com ingestão total mais alta de magnésio têm melhor memória de curto prazo.

15
20

Exemplo 18. Correlação entre Memória de Curto Prazo e Concentração Plasmática de Magnésio em Camundongos com Doença de Alzheimer (AD)

Neste exemplo, foi determinada a correlação entre memória de curto prazo e concentração plasmática de magnésio em camundongos com doença de Alzheimer (AD). O teste de reconhecimento de novos objetos foi usado para avaliar a memória de curto prazo de camundongos como AD que receberam tratamento com magnésio. O procedimento experimental é similar àquele descrito no Exemplo 16, exceto que quatro objetos foram usados (três velhos e um novo) em cada teste. A preferência de exploração para o objeto inusitado em camundongos com AD está linearmente correlacionada

25
30

com seus valores plasmáticos de magnésio ($n = 11$, $p < 0,05$). Os resultados estão ilustrados na figura 20.

A importância dos Exemplos 16 e 17 é que pela primeira vez estabeleceu-se que a melhora da função cognitiva está linearmente correlacionada com a ingestão de magnésio, a qual, por sua vez, está linearmente correlacionada com o nível sanguíneo de magnésio. Estes resultados são inesperados, pois era igualmente razoável esperar que apenas quando a ingestão de magnésio ou os níveis sanguíneos de magnésio atingem um certo nível mínimo a função cognitiva pode ser melhorada. Além disso, sem estas descobertas, os versados nessas técnicas não saberiam até qual grau a função cognitiva de um animal pode ser melhorada. Os presentes dados sugerem que a ingestão de magnésio deve ser tão alta quanto prática, desde que a ingestão não cause diarreia e o nível sanguíneo de magnésio não exceda o limite superior da faixa de distribuição normal de magnésio no sangue (isto é, induzem efeitos de hipermagnesemia). Assim sendo, esta invenção apresenta os fundamentos para determinar a faixa de dosagem ótima e o esquema de dosagem ideal para qualquer composto de magnésio apropriado que mantém as concentrações sanguíneas de magnésio na extremidade alta da faixa de distribuição normal de magnésio no sangue para uma dada espécie animal.

Exemplo 19. Correlação entre Motilidade Física de Camundongos com Doença de Alzheimer (AD) de uma Maneira Dependente da Dose

Neste exemplo, demonstrou-se a correlação entre motilidade física de camundongos com AD de uma maneira dependente da dose. O movimento de camundongos durante o teste do labirinto aquático (similar ao teste descrito no Exemplo 8 acima) foi monitorado com videocâmara. A velocidade de natação de cada camundongo é calculada a partir de análise externa. Os resultados estão ilustrados na figura 21. Como pode ser observado a partir destes resultados, o tratamento com magnésio de camundongos com AD depois de 7 meses de tratamento (figura 21, quadro à esquerda) e 15 meses de tratamento (figura 21, quadro à direita) resultou em motilidade grandemente aumentada durante o teste do labirinto aquático.

Exemplo 20. Melhora Sustentada de Funções de Aprendizado e Memória de Camundongos com Doença de Alzheimer (AD) que Receberam Suplementação de Magnésio

Neste exemplo, foi estudada a capacidade de a suplementação
5 de magnésio sustentar a melhora das funções de aprendizado e memória de camundongos com AD. Um grupo de 10 camundongos que foram geneticamente alterados para apresentar sintomas de doença de Alzheimer (AD) foi alimentado com uma Dieta de Magnésio (uma dieta de ração sólida normal e uma solução de treonato de magnésio e água). A concentração de treonato
10 de magnésio na solução foi tal que o consumo de uma quantidade normal da solução correspondesse a uma ingestão total de magnésio elementar associado com o treonato de magnésio de cerca de 3 mg/dia/camundongo. Outro grupo, o grupo de controle, de 10 camundongos que foram geneticamente alterados para apresentar sintomas de AD foi alimentado com uma Dieta de
15 Controle (uma dieta de ração sólida normal e água).

No dia final dos 60 dias sob as dietas descritas, cada grupo de camundongos foi treinado e testado de acordo com o teste do labirinto aquático de Morris modificado (Morris et al., *Nature* 297,681-683 (1982)), como agora descrito. A piscina usada foi uma piscina de água em um tanque metálico circular (150 cm de diâmetro e 50 cm de profundidade), tendo uma
20 altura de água de 30 cm e uma temperatura da água mantida a 22 °C. A piscina foi colocada em uma área moderadamente iluminada e circundada por uma cortina preta. Uma plataforma acrílica (15 cm de diâmetro) foi colocada 2 cm abaixo da superfície da água no meio de um quadrante da piscina, equidistante do centro e da borda da piscina. Fora da piscina, pistas foram
25 colocadas de modo a ficarem visíveis para um camundongo no labirinto, permitindo que um camundongo usasse-a como um marco para orientação espacial. As pistas permaneceram inalteradas no período do teste inteiro.

No primeiro dia de treinamento e período de teste, a água na
30 piscina era transparente, de tal modo que a plataforma ficasse visível. Cada camundongo foi treinado para nadar na direção da plataforma e ficar em pé sobre a plataforma de modo a não submergir na piscina. Cada camundongo

passou por uma tentativa, seguido de um intervalo de 1 hora, seguido de outra tentativa, e assim por diante, para um total de 5 tentativas. Em cada tentativa, o camundongo em questão era colocado com a mão dentro da piscina de água em uma posição inicial ou solta que foi selecionada aleatoriamente a partir de três posições iniciais possíveis. O camundongo precisava encontrar a plataforma de modo a não afundar na piscina. Caso o camundongo encontrasse a plataforma, ele era deixado ficar por três 30 segundos antes que ele fosse devolvido para sua gaiola de estadia. A quantidade de tempo que o camundongo levou para encontrar a plataforma, referida como "latência de escape", foi registrada para cada tentativa. No segundo dia de treinamento período de teste, uma pequena quantidade de leite foi adicionada à água na piscina, de tal modo que a piscina ficasse opaca e a plataforma não ficasse mais visível. Cada camundongo passou por uma tentativa, seguida de um intervalo de 1 hora, seguido de outra tentativa, e assim por diante, para um total de 5 tentativas. Cada tentativa foi como descrita para o primeiro dia do período de treinamento e teste. Depois que novamente, cada camundongo em questão colocado na piscina precisou para encontrar a plataforma de modo a não afundar na piscina. A quantidade de tempo que o camundongo levou para encontrar a plataforma, ou latência de escape, foi registrada para cada tentativa. No segundo dia de treinamento período de teste, uma pequena quantidade de leite foi adicionada à água na piscina, de tal modo que a piscina ficasse opaca e a plataforma não ficasse mais visível. Cada camundongo passou por uma tentativa, seguida de um intervalo de 1 hora, seguido de outra tentativa, e assim por diante, para um total de 5 tentativas. Cada tentativa foi como descrita para o primeiro dia do período de treinamento e teste. Novamente, cada camundongo colocado na piscina precisou encontrar a plataforma de modo a não afundar na piscina. A quantidade de tempo que o camundongo levou para encontrar a plataforma, ou latência de escape, foi registrada e considerada como uma medida da capacidade de memória espacial de curto prazo e aprendizado do camundongo. Uma medição da latência de escape mais baixa estava associada a uma melhor capacidade de aprendizado e memória. Caso o camundongo fosse incapaz de

encontrar a plataforma dentro de 90 segundos, ele era guiado até ela e colocado sobre ela por 30 segundos, após o que a tentativa foi encerrada e o camundongo recebeu uma pontuação máxima de latência de escape de 90 segundos para a tentativa.

5 Os dois grupos de camundongos passaram por mais dias de treinamento e teste da maneira descrita acima para o segundo dia do período de treinamento e teste. Uma latência de escape média associada às cinco tentativas foi calculada para cada grupo de camundongos para cada um dos dias 2-6 do período de treinamento e teste. Uma representação gráfica
10 destes resultados de latência de escape média foram plotados contra o dia associado do período de treinamento e teste está ilustrada na figura 15 (quadros A e C). Como ilustrado, à medida que os dias em treinamento e teste aumentavam, a latência de escape média diminuía para cada grupo de camundongos. Como também ilustrado, no terceiro dia e depois do terceiro dia
15 do período de treinamento e teste, os camundongos no grupo da dieta fortificada com magnésio superaram os camundongos no grupo de controle.

Para verificar os efeitos de longo prazo do tratamento com o composto de magnésio, os camundongos com AD tratados com magnésio ficaram sob a Dieta de Magnésio continuamente. As capacidades de aprendizado de três dos camundongos foram avaliadas usando o teste do labirinto aquático 10 meses depois de iniciar a dieta. Os camundongos com AD deixam de encontrar a plataforma escondida completamente, enquanto que os camundongos do tipo selvagem e os camundongos com AD sob o tratamento com magnésio ainda conseguem encontrar a localização da plataforma
20 escondida rapidamente (dados não ilustrados). Estes resultados demonstram que o tratamento com magnésio ainda é eficaz depois do tratamento de longo prazo.

Finalmente, mesmo depois de 15 meses de tratamento com magnésio (por intermédio das dietas descritas acima), a memória de curto
30 prazo dos camundongos com AD (medida usando um teste de reconhecimento de objetos inusitados descrito acima) ainda era tão boa quanto aquela dos camundongos de controle do tipo selvagem, enquanto que os camun-

dongos com AD sem tratamento de magnésio tinham memória de curto prazo muito ruim (dados não ilustrados).

Exemplo 21. Efeitos Melhoradores da Suplementação de Magnésio sobre Depressão.

5 Neste exemplo, um teste de natação forçada (FST) foi usado para avaliar os efeitos antidepressivos do composto de magnésio. O FST é a ferramenta mais amplamente utilizada para avaliar a atividade antidepressiva pré-clinicamente. O teste segue o método descrito por Porsolt *et al.*, *Nature*, 266: 730-2 (1977) com uma pequena modificação para aumentar sua
10 sensibilidade (Cryan *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.*, 23:238-45 (2002)). Os animais foram colocados individualmente dentro de cilindros de vidro (50 cm de altura; 20 cm de diâmetro), contendo 40 cm de água a 22 °C. Depois de 15 min, eles foram transferidos para um ambiente de secagem a 30 °C por 30 min (a fase de pré-teste). Os animais foram devolvidos para o cilindro 24
15 h depois por 5 min (a fase de teste), e esta sessão foi registrada com uma videocâmara. Água fresca foi usada para cada rato e o cilindro foi limpo. Os experimentos foram realizados entre 10h00min e 15h00min. A observação dos videoteipes foi realizada por um experimentador que não sabia sobre o tratamento recebido pelos animais e o tempo de imobilidade foi medido. Um
20 rato era considerado imóvel quando flutuava e fazia apenas os movimentos necessários para manter suas narinas acima da superfície da água. Adicionalmente, o comportamento dos animais durante a fase de teste foi dividido em natação, escalamento e imobilidade durante intervalos de 5 segundos, e depois os dados foram analisados como descrito (Cryan *et al.*, 2002).

25 Uma redução significativa na imobilidade dos animais tratados com treonato de magnésio em comparação com os controles foi observada depois do consumo crônico de treonato de magnésio. O interessante é que o tempo de imobilidade dos animais tratados com treonato de magnésio se correlaciona significativamente com a ingestão de treonato de magnésio (fi-
30 gura 22). Estes resultados indicam que, similarmente ao efeito sobre a função cognitiva, o magnésio tem efeito antidepressivo também de uma maneira dependente da dose. O resultado sugere que a faixa de dosagem ótima e

o esquema de dosagem ótimo para um composto de magnésio a fim de intensificar a função cognitiva são igualmente aplicáveis à utilização de magnésio como um antidepressivo.

Exemplo 22. Maior Período de Vida de *Drosophila* que Recebem Treonato de Magnésio

Para examinar o efeito de magnésio sobre o período de vida de um animal, duas cepas de endógamas de laboratório padronizadas de *Drosophila*, moscas do tipo selvagem 2U e Canton S (CS), foram alimentadas com treonato de magnésio (MgT). As moscas foram criadas em garrafas ou frascos mantidos a 25 °C e 65% de umidade em um ciclo de 12 horas e iluminação/12 horas de escuridão. A linhagem 2U foi criada em meio de mosca de laboratório padrão da Cold Spring Harbor. A linhagem CS foi criada em cultura de densidade padrão sobre meio de mosca de laboratório. Os meios suplementados com magnésio foram preparados adicionando MgT ao meio fundido normal sob agitação intensa a 70 °C. A concentração final de MgT na ração para a linhagem 2U foi de 80, 160, 240 e 400 ug/g, respectivamente, enquanto que a concentração final de composto na ração para a linhagem CS foi de 100, 200, 300 e 500 ug/g, respectivamente. As moscas foram inicialmente criadas em garrafas de plástico transparentes com tamanho de 30 mL, contendo 4 mL de meio de alimentação. As moscas recém-nascidas no dia da eclosão foram transferidas para o meio que contém concentração diferente de MgT por 2 dias para acasalamento. Depois disso, moscas machos e fêmeas foram transferidas para frascos (20/frasco) sob anestesia com CO₂ e iluminação. Havia cerca de 200 moscas em cada tratamento. As moscas foram transferidas para frascos contendo meio fresco a cada 2 dias e as mortes foram pontuadas diariamente. Os dados foram plotados como taxa de sobrevivência versus tempo (figura 23) ou como mudança percentual de período de vida versus vezes na quantidade de aumento de magnésio na ração (figura 24) a partir de múltiplas tentativas.

Os resultados sugerem que o benefício da suplementação de magnésio não está limitado à função cognitiva – ela melhora a saúde global do animal. Eles sugerem também que existe uma faixa de dosagem ótima de

magnésio. Uma dosagem alta demais ou um nível corporal de magnésio alto demais podem diminuir o benefício ou mesmo causar mal. Assim sendo, estes dados fornecem também fundamento adicional para estabelecer a faixa ideal de suplementação que produz benefícios para a saúde.

5 Exemplo 23. Medição da Concentração Plasmática, Sérica ou Urinária de Magnésio

Neste exemplo, desenvolve-se um novo método para determinar as concentrações fisiológicas de magnésio. Os dados discutidos acima demonstram que um nível corporal de magnésio relativamente alto é importante para obter um benefício máximo para a saúde, mas um nível de magnésio alto demais pode ser nocivo. Portanto, é desejável que um indivíduo tome a quantidade certa de um suplemento de magnésio de tal modo que o nível desejado de magnésio no corpo seja atingido. Para fazer isto, dois requisitos precisam ser atendidos. O primeiro é uma maneira confiável para avaliar o nível de magnésio no corpo. O segundo é uma técnica de suplementação de magnésio eficiente e controlável. Descreve-se aqui o método derivado a partir dos dados coletados, que forneceram as informações que permitiram atender a ambos requisitos.

Descobriu-se que depois de uma refeição, o nível sanguíneo de magnésio (tal como o $[Mg]_{\text{plasma}}$) sobe rapidamente, atingindo um pico e depois caindo de volta para um nível basal. É o nível basal da concentração sanguínea de magnésio ("[Mg] basal") que é indicativo do estado de magnésio no corpo. A concentração de magnésio no pico ou perto dele é altamente variável, dependendo da quantidade e do tipo de alimento ingerido. Assim sendo, caso o magnésio no sangue seja medido depois de uma refeição, o valor é possivelmente alto demais e variável em natureza. A maioria das orientações clínicas para medir o estado de magnésio no sangue, que não é necessário jejuar antes de coletar uma amostra de sangue. Isto pode explicar pelo menos parcialmente a ampla disparidade nas faixas normais relatadas de concentração sanguínea de magnésio para indivíduos saudáveis e também com má saúde.

A importância da presente descoberta é dupla. Primeiramente, a

concentração sanguínea basal de magnésio medida depois de 12 horas de jejum reflete mais o estado verdadeiro de magnésio no corpo. Em segundo lugar, a suplementação de magnésio deve ser, de preferência, tomada entre refeições, e mais preferivelmente, tomada antes da hora de dormir. O suplemento está, de preferência, na forma líquida, ou mais preferivelmente, uma forma sólida com liberação lenta. A razão subjacente é que, quando a concentração sanguínea de magnésio atinge o pico, a maior parte do magnésio é excretada na urina por intermédio dos rins. Assim sendo, é preferível coordenar as horas de refeições e as horas de suplementação, de tal modo que uma concentração sanguínea mais sustentada seja atingida, permitindo mais tempo para que o magnésio no sangue se distribua para os tecidos. Ainda mais preferivelmente, a suplementação de magnésio é tomada na hora de dormir.

O estado de magnésio no corpo pode ser avaliado de várias maneiras ou uma combinação de várias maneiras. Outros indicadores do estado de magnésio no corpo e métodos de detecção incluem os seguintes: 1) magnésio ionizado intracelular em eritrócitos; 2) teor ósseo de magnésio; 3) concentração de magnésio no líquido cerebrospinal; 4) ensaio de magnésio sublingual (por exemplo, uso do 'Exatest' é um teste usado, por exemplo, durante cirurgia cardíaca para determinar os níveis celulares de magnésio.); 5) magnésio livre intracelular; e 6) espectrometria por ressonância magnética nuclear (RMN) (vide Buchli e Duc, *Magn. Reson. Med.* 32:47-52 (1994)).

Para este exemplo, Calmagite, um corante quelante de Mg^{2+} , foi usado para medir $[Mg]_{\text{plasma}}$ e $[Mg]_{\text{urina}}$ em uma solução alcalina ($pH > 11$) (vide, por exemplo, Khayam-Bashi, *et al.*, *Clin. Chem.* 23: 289-91 (1977)); Abernethy e Fowler, *Clin. Chem.* 28: 520-22 (1982); e Liedtke e Kroon, *Clin. Chem.* 30: 1801-4 (1984)). Depois de se ligar a Mg^{2+} , o corante azul Calmagite forma um complexo cor de cravo Calmagite- Mg^{2+} um máximo de absorção a ~ 520 nm. De acordo com a lei de Lambert-Beer, a concentração de Mg^{2+} entre 0~2.5 mM tem uma correlação linear com o valor de absorvância a 520 nm. Assim sendo, $[Mg^{2+}]$ em uma amostra pode ser obtido a partir da absorvância a 520 nm e uma curva-padrão.

Para todas as medições de $[Mg^{2+}]$ neste estudo inteiro, uma solução de trabalho de Calmagite contendo EGTA, cloreto de estrôncio e AMP, foi preparada de acordo com as referências citadas acima. O propósito de adicionar EGTA, cloreto de estrôncio e AMP foi para remover a interferência de cálcio e ferro. Uma curva-padrão foi primeiramente gerada usando uma série de soluções de $MgSO_4$ ou $MgCl_2$ com concentrações conhecidas (soluções-padrão). Um pequeno volume (50 μL) de uma solução-padrão foi adicionado a 2 mL de solução de trabalho de corante em uma cubeta de quartzo. Depois de uma breve incubação, a absorvância da solução a 520 nm foi medida para dar A_1 usando um espectrofotômetro Beckman Uv/Vis 530. Subsequentemente, 5 μL de solução 150 mM de EDTA foram adicionados à solução acima, e em seguida, 1 minuto de incubação para romper o complexo de Magnésio/Calmagite. A solução foi incubada até que a absorvância a 520 nm ficasse estável. Este valor de absorvância estável, A_2 , foi a absorvância de fundo. Uma curva-padrão foi gerada plotando $(A_1 - A_2)$ versus $[Mg^{2+}]_{padrão}$. As amostras de plasma ou urina foram medidas de acordo com o mesmo procedimento usado para gerar a curva-padrão, exceto que as amostras de urina foram diluídas, caso necessário, até abaixo de 2,5 mM. As concentrações de magnésio das amostras foram obtidas a partir dos valores de $(A_1 - A_2)$ e da curva-padrão. As biodisponibilidades de três composições de magnésio, diglicinato de magnésio, gliconato de magnésio e gliconato de magnésio em leite (a 0,8 mg/mL), foram comparadas em três voluntários masculinos saudáveis. Antes de iniciar a suplementação de magnésio, amostras de urina dos voluntários foram coletadas por 2 dias. Depois, os voluntários foram solicitados a tomar qualquer uma das três composições de magnésio na quantidade de 200 mg de magnésio em cada vez duas vezes ao dia por 2 dias, e durante este tempo as amostras de urina foram coletadas. Todas as amostras de urina foram analisadas quanto a seus teores de magnésio usando o método do corante descrito acima. A excreção urinária cumulativa de magnésio foi usada para determinar a biodisponibilidade (taxa de absorção de magnésio) de cada composição de magnésio de acordo com o procedimento relatado usando a fórmula abaixo (Drenick, E.J., *et al.*, *J Clin Endocri-*

nol Metab, 1969. 29(10): páginas 1341-8; Lim & Jacob, *Metabolism*, 1972, 21(11): páginas 1045-51):

$$k_x = (Mg_u^2 - Mg_u^1) / \text{dosagem}$$

onde k_x é a taxa de absorção de magnésio; Mg_u^2 é a quantidade de magnésio na urina em 2 dias com suplementação de magnésio; Mg_u^1 é a quantidade de magnésio na urina em 2 dias em suplementação de magnésio; e a *dosagem* é a quantidade diária de magnésio tomada.

A comparação das biodisponibilidades de vários compostos de magnésio, utilizando esta metodologia, foi determinada em vários indivíduos humanos. Foram coletados dados para gliconato de magnésio + leite, diglicinato de magnésio e gliconato de magnésio. Os resultados estão ilustrados na figura 25. Para comparação, a disponibilidade de outros compostos de magnésio determinada por outros compostos também está ilustrada na figura 25 (vide Muhlbauer, *et al.*, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 40:437-8 (1991); vide também Bohmer, *et al.*, *Magnes. Trace Elem.* 9: 272-8 (1990). Este estudo demonstra que há diferenças na biodisponibilidade entre magnésio acompanhado de diferentes contra-íons e que, para alguns contra-íons, a distribuição de magnésio com leite intensifica a biodisponibilidade.

Exemplo 24. Medição da Concentração Plasmática, Sérica ou Urinária de Magnésio

Dois grupos de 6 camundongos com doença de Alzheimer (AD) foram alimentados com uma dieta de magnésio (grupo do teste) e uma dieta normal (grupo de controle) com 5 meses de idade, respectivamente, como descrito acima. A função cognitiva dos dois grupos de animais foi então avaliada em 21 meses de idade, usando o teste de reconhecimento de objetos inusitados descrito acima. Depois do teste, os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 10% (4ul por grama) e depois perfundidos de forma trancardial com PBS gelada (pH 7,4, sem CaCl_2 e MgCl_2) e paraformaldeído a 4%. A seguir, o cérebro inteiro de cada animal foi removido imediatamente e pós-fixado em paraformaldeído a 4% a 4 °C por 2 horas à temperatura ambiente. A parte do tronco cerebral foi cortada para fora do cérebro total em uma tampa de placa e depois colocada em um tubo de 15mL para medir

- o peso do tecido. Oito mililitros de ácido nítrico concentrado foram adicionados a cada tubo que contém tecido. Os tubos foram então colocados em um forno microondas para digestão de amostras para digerir as amostras usando um procedimento de digestão programado em três estágios, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Etapas da Digestão por Microondas

Etapa	Potência (W)	Tempo de Aquecimento (min)	Pressão (psi)	Temperatura Final (°C)	Tempo de Retenção (min)
1	1.200	6	800	120	2
2	1.200	3	800	150	2
3	1.200	5	800	180	20

- As soluções pelúcidas formadas depois da digestão foram resfriadas até à temperatura ambiente e depois cada uma foi transferida para um bécher separado com água NanoPure. O ácido nítrico nos bécheres foi removido por evaporação a 170 °C. O resíduo em cada bécher foi então diluído novamente até 25 mL em um frasco volumétrico. Os teores de magnésio das soluções foram determinados por espectroscopia de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (IRIS, Intrepid II XSP, Thermo Electron, EUA). A partir da quantidade total do magnésio em cada solução e o peso da amostra de tecido, a concentração de magnésio no tronco cerebral foi obtida.

- A correlação entre a concentração cerebral de magnésio e a ingestão diária de magnésio ou entre o nível da função cognitiva e a concentração cerebral de magnésio foi plotada e está ilustrada na figura 26. O quadro A demonstra a correlação a concentração de magnésio no cérebro (mg de magnésio por grama de tecido) e a quantidade de ingestão diária de magnésio (mg de magnésio por grama de peso corporal). O quadro B demonstra a correlação entre a memória de curto prazo (avaliada pelo teste de reconhecimento de objetos inusitados) e a concentração de magnésio no cérebro. Como pode ser observado a partir destes resultados, descobriu-se que a quantidade da ingestão de magnésio em camundongos com doença de Alzheimer (AD) está linearmente correlacionada com a quantidade de

magnésio no cérebro, o que, por sua vez, estava linearmente correlacionada com o nível da função cognitiva. Estes dados sugerem fortemente uma relação causal entre elevação do nível de magnésio no cérebro e melhora da função cognitiva.

5 Exemplo 25. Medição da Concentração Plasmática, Sérica ou Urinária de Magnésio

Outra maneira para definir a biodisponibilidade de uma composição de magnésio é a capacidade de a composição distribuir magnésio para tecidos. De muitas maneiras, esses são os critérios definitivos para julgar a biodisponibilidade de uma composição de magnésio. Meramente distribuir magnésio para a corrente sanguínea não é garantia que o magnésio entrará nos tecidos certos porque o magnésio recém-absorvido pode ser simplesmente excretado pela urina. Como demonstrado no exemplo anterior, para obter melhor função cognitiva, é importante que o magnésio seja distribuído para o cérebro.

O treonato de magnésio é melhor em direcionar o magnésio para o cérebro, em comparação com gliconato de magnésio no leite como ilustrado na figura 27A. Isso é uma descoberta surpreendente, pois outros estudos indicam que o gliconato de magnésio no leite tem biodisponibilidade mais alta para o sangue do que o treonato de magnésio (dados não ilustrados). Os dados do comportamento de animais também fundamentam que o treonato de magnésio é melhor do que o gliconato de magnésio no leite em distribuir magnésio para o cérebro. A figura 27B ilustra que os ratos que receberam suplementos de treonato de magnésio na água (como descrito anteriormente) na quantidade indicada apresentaram melhora acentuada na sua memória de curto prazo em um teste de reconhecimento de objetos inusitados (como descrito anteriormente). A figura 27C ilustra que os ratos que receberam gliconato de magnésio dissolvido no leite não demonstram qualquer melhora na função da memória de curto prazo no teste de reconhecimento de objetos inusitados.

Estes dados indicam que a eficácia em elevar o magnésio cerebral por um dado composto de magnésio é desejável para intensificar a fun-

ção de memória dos animais. Além disso, os dados sugerem que o contra-
 íon de treonato pode facilitar a absorção magnésio por tecidos, particular-
 mente tecidos cerebrais. Assim sendo, além do uso de treonato de magnésio
 para suplementar magnésio, a utilização diferencial da composição de con-
 tra-íon de magnésio pode produzir um a série de outros métodos possíveis
 para aumentar a absorção de magnésio por tecidos direcionados. Por exem-
 plo, um não-treonato de magnésio pode ser usado em combinação com
 qualquer outro composto de magnésio apropriado para intensificar a biodis-
 ponibilidade do composto. Os exemplos de compostos diferentes de treonato
 de magnésio incluem, porém sem limitações, treonato de sódio, treonato de
 potássio, ácido treônico, treonato de cálcio. Alternativamente, um composto
 precursor de treonato pode ser usado da mesma maneira. Os exemplos de
 tais compostos precursores de treonato incluem, porém sem limitações, és-
 teres de ascorbato e de treonato. O ascorbato é metabolizado no corpo para
 formar treonato, enquanto que o éster de treonato, tal como éster etílico de
 treonato, pode se tornar hidrolisado no corpo para formar treonato. Quando
 um composto de treonato ou precursor de treonato é usado para intensificar
 a biodisponibilidade de outro composto de magnésio, os dois compostos po-
 dem ou não estar combinados fisicamente. Quando tomados separadamente,
 eles podem ser tomados na mesma hora ou tomados em horas separadas.

Exemplo 26. Medição da Concentração de Magnésio sob Condições de Je-
 jum para Determinar os Níveis da Suplementação

Este exemplo fornece um método da presente invenção desen-
 volvido para aumentar $[Mg]_o$, a concentração de Mg^{2+} no compartimento ex-
 tracelular, até um nível-alvo predeterminado. Esta mudança de $[Mg]_o$ atinge
 uma melhora de várias funções fisiológicas.

Diferentemente de sódio ou cálcio, parece não haver mecanis-
 mos homeostáticos hormonais importantes para regular o magnésio sérico.
 A faixa normal é resultado de um equilíbrio entre a absorção gastrointestinal
 e renal e os processos de excreção. Para este propósito, foram analisados o
 influxo e efluxo de magnésio em um modelo multicompartmentado. A des-
 crição do modelo multicompartmentado é fornecida a seguir:

- Mg_f é a quantidade de magnésio absorvida através da alimentação cada dia, $[Mg]_o$ é a concentração de Mg^{2+} no compartimento extracelular, $[Mg]_i$ é a concentração de Mg^{2+} no compartimento intracelular, Mg_u é a excreção diária de Mg pelo rim, Mg_s é a perda diária de magnésio através do suor, e k_{+i} e k_{-i} são as constantes de velocidade do Mg^{2+} que ditam a troca entre $[Mg]_o$ e $[Mg]_i$. Sob a condição de equilíbrio, o fluxo líquido (tudo representado pela quantidade total por um dia) de $[Mg]_o$ para $[Mg]_i$ é zero, isto é, o influxo e o efluxo se equilibram perfeitamente:

$$Mg_f = Mg_u \left([Mg]_o^1 \right) + Mg_s. \quad (1)$$

- A seguir, descreve-se o caso no qual se decide aumentar $[Mg]_o^1$ para o valor mais alto $[Mg]_o^2$. Para conseguir esta metal, precisa-se no equilíbrio tomar exatamente o suficiente de suplemento de Mg_{su} absorvido para cobrir as perdas adicionais.

$$Mg_f + Mg_{su} = Mg_u \left([Mg]_o^2 \right) + Mg_s, \quad (2)$$

- onde $Mg_u \left([Mg]_o^2 \right)$ é o Mg na urina depois que o suplemento de Mg foi adicionado e o novo equilíbrio foi atingido. Caso a equação fosse rearranjada, obteríamos

$$Mg_f - Mg_s + Mg_{su} = Mg_u \left([Mg]_o^2 \right) \text{ e } Mg_f - Mg_s = Mg_u \left([Mg]_o^1 \right). \text{ Donde}$$

$$Mg_{su} = Mg_u \left([Mg]_o^2 \right) - Mg_u \left([Mg]_o^1 \right). \quad (3)$$

- Para calcular o Mg_{su} necessário para atingir $[Mg]_o^2$, precisa-se determinar a relação entre $[Mg]_o$ e Mg_u .

- 20 Relação entre $[Mg]_o$ e Mg_u

No rim, o Mg no sangue é filtrado glomérulo e reabsorvido em células tubulares. A quantidade de Mg filtrada é o produto da velocidade de filtração glomerular (GFR), $[Mg]_o$, e o peso molecular de Mg (Mg_{mw}) ($GFR \cdot [Mg]_o \cdot Mg_{mw}$).

- O magnésio filtrado é reabsorvido em túbulos renais. Quando o $[Mg]_o$ está abaixo de um certo ponto, o rim é capaz de reter todo o Mg filtrado, e Mg_u é quase zero. Neste ponto, a excreção de magnésio pela urina parece estar linearmente correlacionada com $[Mg]_o$. Para quantificar este processo, estudou-se a relação entre $[Mg]_o$ e Mg_u em 3 voluntários humanos.

As quantidades de magnésio no sangue e urina foram amostradas a cada quatro horas no dia durante o jejum. Suas relações estão plotadas na figura 28A. Evidentemente, a relação entre magnésio da urina e $[Mg]_o$ é linear.

A partir destes dados, pode-se obter uma fórmula empírica que prevê a relação geral entre $[Mg]_o$ e Mg_u na faixa fisiológica diária relevante 0,7-0,85 mM, isto é, a faixa atingida sem jejum extenso. Define-se $[Mg]_o$ no ponto em que as perdas na urina vão a zero para ser $[Mg]_{basal}$. A excreção de Mg através do rim poderia ser tomada como sendo proporcional a $[Mg]_o - [Mg]_{basal}$. Assim sendo, para uma dada GFR e um período de tempo (T (ho-

$$\frac{Mg_u \cdot ([Mg]_o)}{GFR \cdot T_s} = Mg_{mw} \cdot k_s \cdot ([Mg]_o - [Mg]_{basal}) \quad (4)$$

onde k_e é a constante de proporcionalidade, que fisiologicamente define a velocidade da perda de Mg através dos rins em um dado $[Mg]_o$. Os dados que encaixam na equação 4 parecem suficientes para prever a relação entre $[Mg]_o$ e $[Mg]_u$ (figura 28A).

Combinando as equações 3 e 4, a quantidade de Mg líquida necessária como suplemento para atingir um $[Mg]_o$ mais alto pode ser prevista pela seguinte equação:

$$Mg_{su} = GFR \cdot T \cdot Mg_{mw} \cdot k_s \cdot ([Mg]_o^2 - [Mg]_o^1) \quad (5)$$

Para um composto de Mg X com biodisponibilidade de k_x , a quantidade de composto de Mg composto que se precisa tomar é

$$Mg_X = Mg_{su} / k_x.$$

Aplicando o acima exposto à rotina seguida pelos usuários para determinar o estado inicial de Mg, a escolha da quantidade correta de suplemento e circuito de retroalimentação para atingir o resultado desejado:

1) determinar o estado de Mg no corpo: usando $[Mg]_{plasma}$ às 9h00min antes do café da manhã e depois de jejuar 12 horas.

2) decidir $[Mg]_{plasma}$ -alvo

3) calcular k_e e $[Mg]_{basal}$ usando os seguintes procedimentos:

c. Dia um: Medir $[Mg]_{plasma}$ às 9h00min antes do café da manhã e coletar Mg_u das 8h30min às 10h30min.

d. Medir $[Mg]_{\text{plasma}}$ às 15h:00min e coletar Mg_u das 14h30min às 16h30min (2-4 horas depois do almoço no pico esperado de $[Mg]_{\text{plasma}}$ e Mg_u).

e. Dia dois: Tomar 300 mg de gliconato de magnésio dissolvido em 200 mL de leite às 12h00min com alimento normal. Medir $[Mg]_{\text{plasma}}$ às 15h00min e coletar Mg_u das 14h30min às 16h30min.

f. A partir da amostra de sangue e urina, pode-se determinar GFR média para cada par de amostras de sangue e urina.

g. Plotar os dados coletados e encaixá-los em uma equação linear

$$\frac{Mg_u ([Mg]_o)}{GFR \cdot T_s} = Mg_{mw} \cdot k_e \cdot [Mg]_{\text{plasma}} + b$$

h. Finalmente, $[Mg]_{\text{basal}} = -b / (Mg_{mw} \cdot k_e)$ (6)

i. Vide figura 28B

4) Dosagem Ótima:

Com os parâmetros determinados a partir dos procedimentos acima, pode-se calcular a dosagem apropriada com as seguintes equações:

$$Mg_x = GFR \cdot T \cdot Mg_{mw} \cdot k_e \cdot ([Mg]_o^2 - [Mg]_o^1) / k_x \quad (7)$$

As previsões para três indivíduos humanos que utilizam este método estão indicadas na Tabela 2.

Indiv.	GFR	Tempo	$[Mg]_{\text{basal}}$	$[Mg]_{\text{inicial}}$	$[Mg]_{\text{final}}$
L	7.5	24	0.67	0.78	0.88
Z	7.5	24	0.69	0.78	0.88
LX	7.5	24	0.72	0.77	0.88

-continuação-

Indiv.	k_e	U inicial	U final	Mgsu	Kx	MgX
L	0.19	93	175	82	0.3	273
Z	0.28	112	233	122	0.3	405
LX	0.51	118	364	246	0.3	820

5) A maneira mais eficaz para carregar: Uma forma com libera-

ção sustentada de composto de Mg (dentro de 12 horas) tomada antes de dormir.

6) verificar os procedimentos:

- a. Um estudo anterior sugere que 6 a 18 dias são necessários para o equilíbrio a ser estabelecido depois das mudanças na ingestão de magnésio. Recomenda-se verificar o estado de Mg no corpo mês depois que a ingestão diária de suplemento de Mg foi iniciada, assumindo que o estado de Mg já tenha atingido aproximadamente o novo equilíbrio. O $[Mg]_{\text{plasma}}$ e Mg na urina serão medidos usando o mesmo procedimento listado na etapa 3a sem tomar suplemento de Mg no dia antes do teste. Caso a dosagem seja apropriada, $[Mg]_{\text{plasma}}$ estará perto de (+/- 10%, mais precisamente +5% a -15% do valor correto, pois a abordagem é entre abaixo) para o nível desejado e Mg_u será perto de

$$Mg_u = GFR \cdot T \cdot Mg_{mw} \cdot k_e \cdot ([Mg]_o^2 - [Mg]_{\text{basal}})$$

- b. Caso $[Mg]_{\text{plasma}}$ e Mg_u se desviem dos valores-alvo, o erro é mais provavelmente devido a uma estimativa imprecisa de k_x . Como a biodisponibilidade (k_x) para um composto de Mg poderia não ser constante entre a população, pode-se usar estes dados para calcular a eficácia da carga de composto de Mg dentro do compartimento intracelular (k'_x).

$$k'_x = (Mg_u^2 - Mg_u^1) / Mg_x \quad (8)$$

Quando k'_x é determinada, a equação 7 pode ser usada para recalcular a dosagem e verificar o $[Mg]_{\text{plasma}}$ e Mg_u um mês depois. Este procedimento pode ser repetido até que $[Mg]_{\text{plasma}}$ atinja o valor desejado.

j. O procedimento 6b é, de preferência, repetido semestralmente.

Exemplo 27. Efeito do Tratamento com Magnésio sobre a Proteção Sináptica em Camundongos com Doença de Alzheimer (AD)

Neste exemplo, examina-se a capacidade de o tratamento com treonato de magnésio proteger contra perda de sinapse em camundongos com AD. Os mesmos grupos de animais usados para o teste de memória no Exemplo 14 são sacrificados. Os cérebros dos animais foram então fixados para análise com microscópio eletrônico para contar o número de sinapses

por área unitária (densidade sináptica). As amostras foram coradas de modo a indicar as sinapses (figura 29 A e B, sinapses indicadas por setas).

A figura 29A ilustra a contagem de sinapses inferiores no giro denteado do hipocampo de camundongos com AD. A figura 29B ilustra a densidade sináptica mais alta na mesma região em camundongos com AD tratados com dieta suplementada com treonato de magnésio. A figura 29C ilustra os resultados de uma comparação quantitativa das densidades sinápticas em camundongos com AD, camundongos com AD que receberam tratamento com treonato de magnésio, e camundongos do tipo selvagem. A densidade sináptica em camundongos com AD é significativamente mais baixa do que para os camundongos do tipo selvagem ou camundongos com AD sob tratamento com MgT ($p < 0,001$). Entretanto, a densidade sináptica em camundongos com AD que receberam tratamento com treonato de magnésio é mais similar à dos camundongos do tipo selvagem. Estes resultados indicam o efeito protetor do tratamento com magnésio sobre a perda sináptica na progressão de doença de Alzheimer (AD).

Uma composição para administração a um indivíduo, tal como administração oral a um indivíduo, por exemplo, foi aqui descrita. Tal composição pode compreender pelo menos um composto de contra-íon de magnésio. Uma composição de contra-íon de magnésio aqui descrita pode ser útil para uma série de aplicações e propósitos aqui descritos, tais como manter, intensificar e/ou melhorar a saúde, nutrição e/ou outra condição de um indivíduo, e/ou função cognitiva, aprendizado, e/ou memória, por exemplo. Uma composição de contra-íon de magnésio aqui descrita pode ser útil para administração a um indivíduo que apresenta deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando, Doença de Alzheimer, distúrbio de déficit de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, distúrbio de ansiedade, distúrbio de humor e/ou hipertensão, meramente a título exemplificativo.

Um kit pode compreender pelo menos um componente de qualquer composição de contra-íon de magnésio aqui descrita ou qualquer composição de contra-íon de magnésio aqui descrita. Um kit pode compreender

ainda um veículo para administrar pelo menos um desses componentes ou tal composição a um indivíduo, tal como um recipiente para beber um componente ou composição líquida, meramente a título exemplificativo, ou um frasco contentor para qualquer componente ou composição e um veículo para transportar o mesmo do recipiente contentor para a boca de um indivíduo, tal como um copinho e uma colher, meramente a título exemplificativo.

Um método para disponibilizar suplementação de magnésio para um indivíduo pode ser útil para um indivíduo de qualquer uma das maneiras aqui descritas. Esse método pode compreender administrar a um indivíduo, tal como administrar por via oral a um indivíduo, pelo menos um composto de contra-íon de magnésio. Esse método pode compreender disponibilizar qualquer quantidade, concentração, ou dosagem apropriada de magnésio elementar associado com o pelo menos um composto de contra-íon de magnésio para um indivíduo.

Uma composição e/ou método aqui descrito pode ser útil para os propósitos aqui descritos, tais como manter, intensificar e/ou melhorar a saúde, nutrição e/ou outra condição de um indivíduo, e/ou função cognitiva, aprendizado e/ou memória, por exemplo, tais como deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando, Doença de Alzheimer, distúrbio de déficit de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, ansiedade, distúrbio de humor, e hipertensão, meramente a título exemplificativo. Uma composição e/ou método aqui descrito pode ser útil para administração a um indivíduo que apresenta deficiência de magnésio, deficiência de magnésio, enfraquecimento cognitivo brando, Doença de Alzheimer, distúrbio de déficit de atenção com hiperatividade, ALS, doença de Parkinson, diabetes, enxaqueca, ansiedade, humor, e/ou hipertensão, meramente a título exemplificativo.

Várias modificações, processos, bem como inúmeras estruturas que podem ser aqui aplicáveis devem ficar evidentes. Vários aspectos, características ou modalidades podem ter sido explicadas ou descritas com relação a entendimentos, convicções, teorias, suposições subjacentes e/ou exemplos de trabalho ou prognósticos, embora se deva entender que quais-

quer entendimentos, convicções, teorias, suposições subjacentes e/ou exemplos de trabalho ou prognósticos específicos não são limitativos. Embora os vários aspectos e características possam ter sido descritas com relação a várias modalidades e exemplos específicos aqui enunciados, deve-se entender que qualquer um dos mesmos não é limitativo com relação ao pleno âmbito das reivindicações apensadas ou outras reivindicações que possam estar associadas a este pedido de patente.

Os exemplos enunciados acima foram fornecidos para oferecer aos versados nessas técnicas uma revelação e descrição de como fazer e usar várias modalidades dos métodos e sistemas aqui descritos, e não são intencionados para limitar o âmbito do que os inventores consideram sua invenção. As modificações dos modos descritos acima para conduzir a invenção, que são óbvias para os versados nessas técnicas, devem estar dentro do âmbito das reivindicações que se seguem. Todas patentes e publicações mencionadas neste relatório descritivo são indicativas dos níveis de habilidade dos versados nas técnicas às quais a invenção pertence. Todas referências citadas neste relatório descritivo são incorporadas como referência até o mesmo grau como se cada referência tivesse sido incorporada como referência em sua totalidade individualmente.

Inúmeras modalidades da invenção foram descritas. Contudo, deve ser entendido que várias modificações podem ser feitas sem fugir do espírito e âmbito da invenção. Consequentemente, outras modalidades estão dentro do âmbito das reivindicações que se seguem.

REIVINDICAÇÕES

1. Composição contendo magnésio, caracterizada pelo fato de que compreende pelo menos 10 mg de treonato de magnésio em uma forma de dosagem oral.

5 2. Composição contendo magnésio, de acordo com a reivindicação 1, caracterizada pelo fato de que a composição é formulada em pelo menos uma forma selecionada a partir de líquida, gel, semi-líquida, semi-sólidos e sólidos.

 3. Composição contendo magnésio, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizada pelo fato de que a forma de dosagem oral é um comprimido ou uma cápsula.

 4. Composição contendo magnésio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que contém pelo menos 500 mg de treonato de magnésio, 10 mg a 800 mg de treonato de magnésio, ou 300 mg a 1,5 g de treonato de magnésio.

15 5. Composição contendo magnésio, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, caracterizada pelo fato de que contém magnésio elementar em uma concentração de cerca de 5 mg/L a cerca de 12 g/L.

20 6. Composição de alimento, caracterizada pelo fato de que compreende um carreador de alimento e uma composição contendo magnésio, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 5.

 7. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a composição de alimento é embalada como uma bebida, um alimento sólido, um alimento semi-sólido.

25 8. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que a composição de alimento é um suplemento alimentar que compreende treonato de magnésio.

 9. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 6, caracterizada pelo fato de que compreende uma quantidade de treonato de magnésio que é eficaz na modulação da função cognitiva de um distúrbio neurológico em um indivíduo em necessidade da mesma.

10. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o treonato de magnésio está presente em uma quantidade eficaz para melhorar a memória de curto prazo ou a memória de longo prazo.

5 11. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o treonato de magnésio está presente em uma quantidade eficaz para melhorar demência.

12. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o treonato de magnésio está presente em
10 uma quantidade eficaz para melhorar depressão.

15. Composição de alimento, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o treonato de magnésio está presente em uma quantidade eficaz para melhorar a doença de Alzheimer.

14. Composição alimentar, de acordo com a reivindicação 9, caracterizada pelo fato de que o treonato de magnésio está presente em
15 uma quantidade eficaz para melhorar o enfraquecimento cognitivo brando.

15. Uso de uma composição, como definida em qualquer uma das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo fato de que é para a preparação de um medicamento para pelo menos um de:

- 20 (a) melhorar a função cognitiva;
 (b) fornecer suplementação de magnésio;
 (c) melhorar o efeito de um distúrbio neurológico;
 (d) melhorar o efeito de um distúrbio metabólico e
 (e) prolongar a expectativa de vida de um indivíduo.

25 16. Uso, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a composição contém magnésio em uma quantidade eficaz para alcançar uma concentração fisiológica de magnésio de 0,75 mM ou superior, em que a referida concentração de magnésio é medida em condições de jejum.

30 17. Uso, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a referida concentração de magnésio é medida após jejum de pelo menos 12 horas.

18. Uso, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a referida concentração fisiológica é a concentração de soro, concentração plasmática, ou concentração do líquido cefalorraquidiano.

5 19. Uso, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a referida concentração fisiológica é a concentração do líquido cefalorraquidiano.

20. Uso, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a referida função cognitiva é a memória de curto prazo ou memória de longo prazo.

10 21. Uso, de acordo com a reivindicação 16, caracterizado pelo fato de que a referida concentração é mantida por um período superior a um mês.

15 22. Uso, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a composição contém magnésio em uma quantidade eficaz para aumentar a concentração fisiológica de magnésio por pelo menos 10% em relação a um nível inicial de magnésio antes da referida administração.

23. Uso, de acordo com a reivindicação 22, caracterizado pelo fato de que a referida concentração é mantida por um período superior a quatro meses.

20 24. Uso, de acordo com a reivindicação 15, caracterizado pelo fato de que a composição contém magnésio em uma quantidade eficaz para aumentar a concentração fisiológica de treonato por pelo menos 10% em relação a um nível inicial de magnésio antes da referida administração.

25 25. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 24, caracterizado pelo fato de que a referida concentração é mantida no nível de 0,75 mM ou superior por pelo menos um mês.

26. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 25, caracterizado pelo fato de que o dito distúrbio neurológico é demência.

30 27. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 26, caracterizado pelo fato de que o dito distúrbio neurológico é doença de Alzheimer.

28. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a

27, caracterizado pelo fato de que o dito distúrbio neurológico é depressão.

29. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 28, caracterizado pelo fato de que o medicamento é para uso profilático.

5 30. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 29, caracterizado pelo fato de que o medicamento é para uso terapêutico.

31. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 30, caracterizado pelo fato de que o referido distúrbio neurológico é enfraquecimento cognitivo brando.

10 32. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 31, caracterizado pelo fato de que a composição contendo magnésio fornece entre 1,5 mg/kg/dia e 18 mg/kg/dia de treonato de magnésio ao indivíduo.

15 33. Uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 15 a 32, caracterizado pelo fato de que a composição contendo magnésio compreendendo treonato de magnésio fornece ao sujeito entre 1,5 mg/kg/dia a 9 mg/kg/dia de magnésio elementar.

FIG. 1

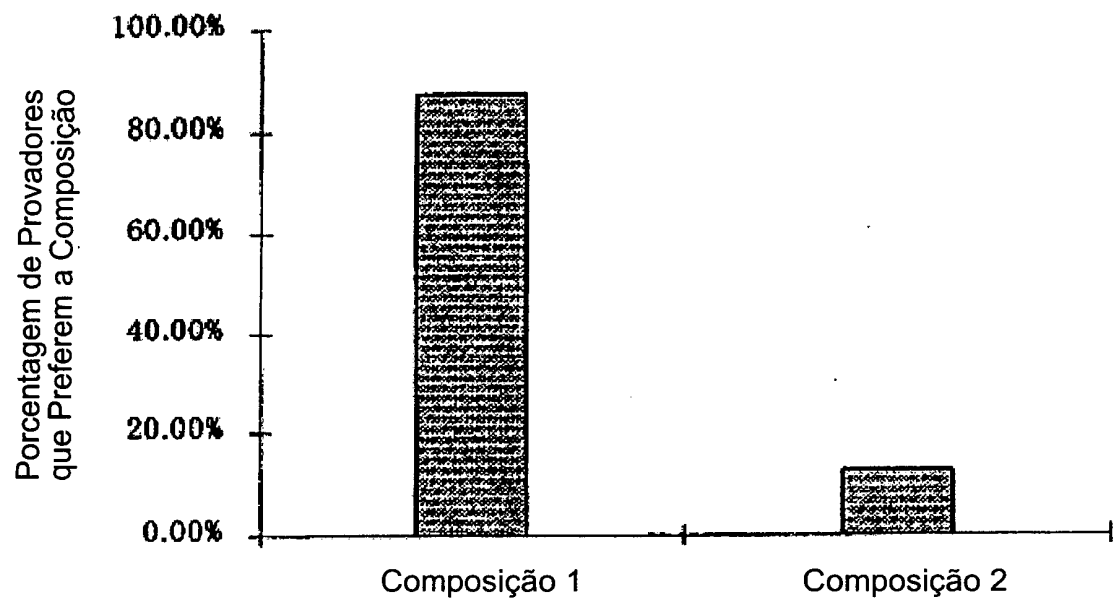


FIG. 2

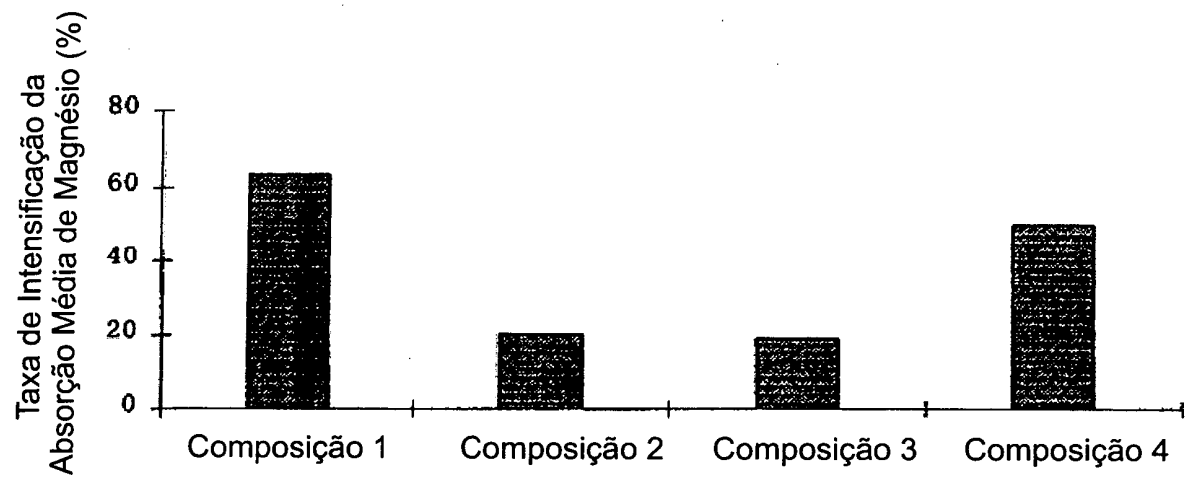


FIG. 3

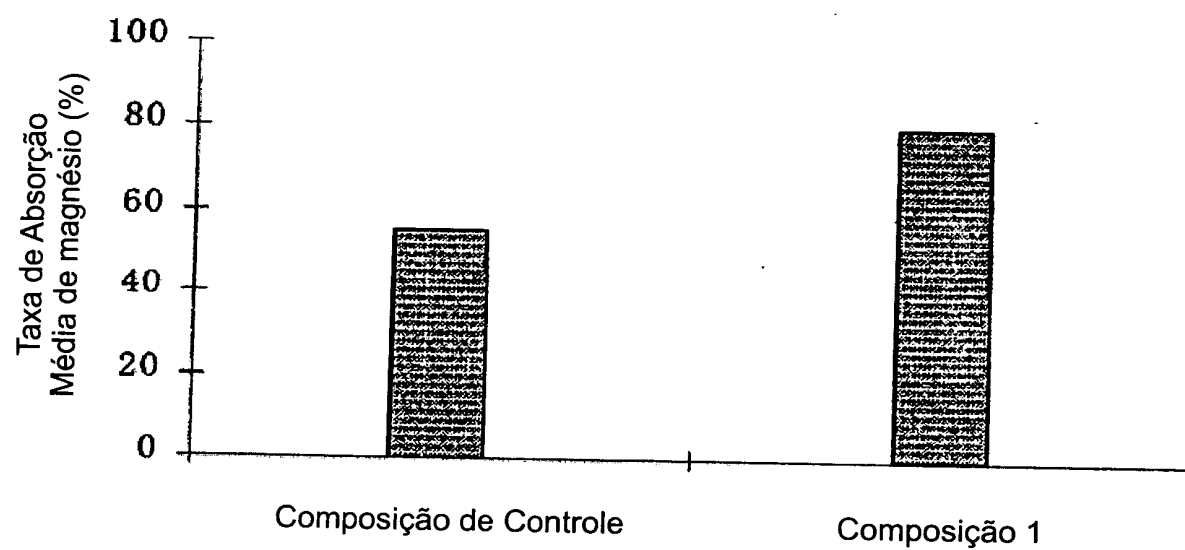


FIG. 4

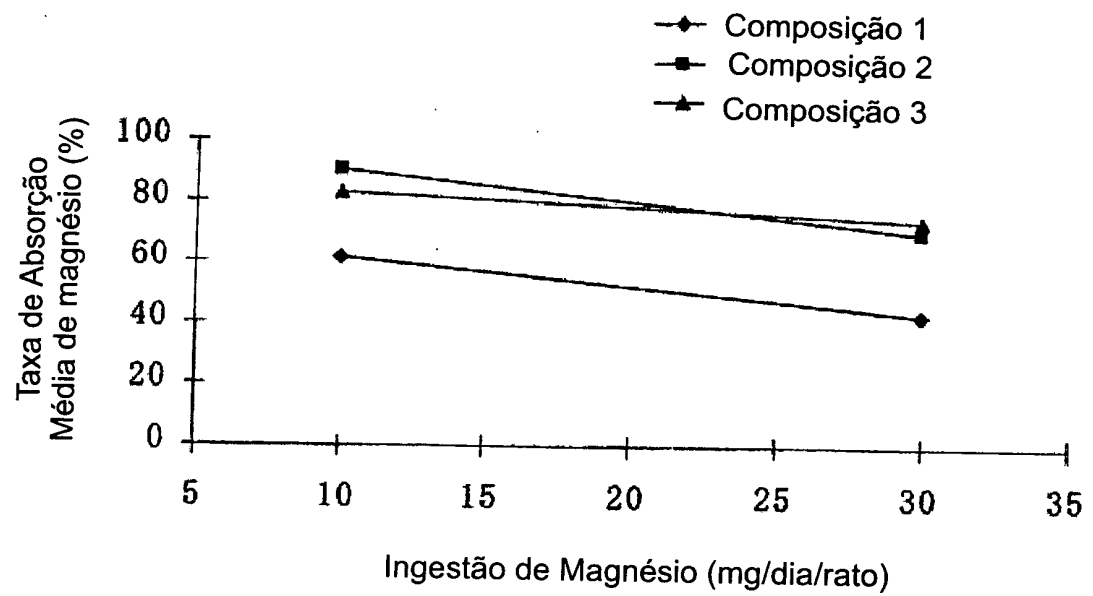


FIG. 5

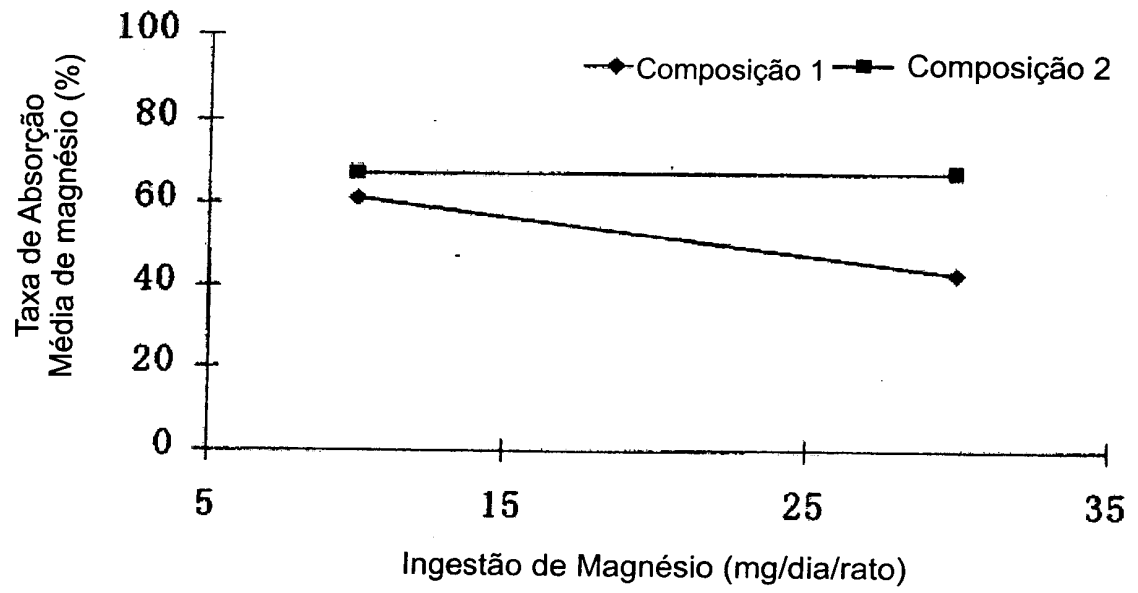


FIG. 6

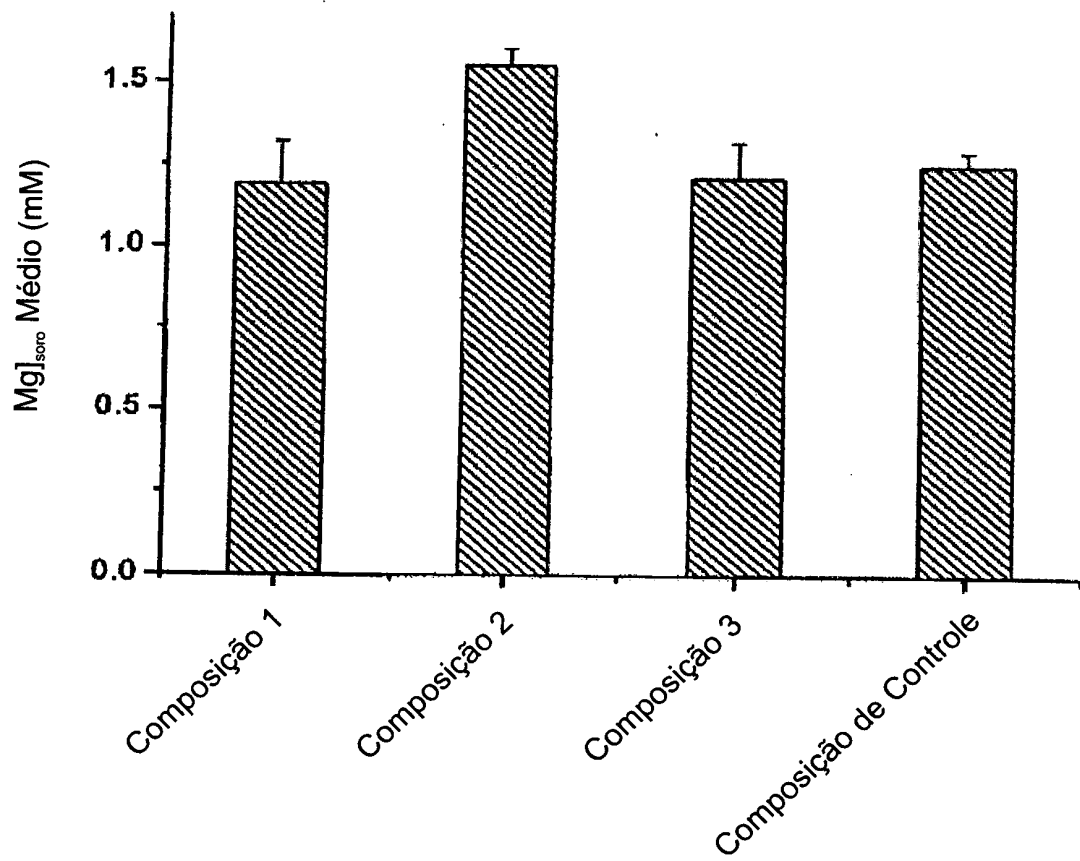


FIG. 7

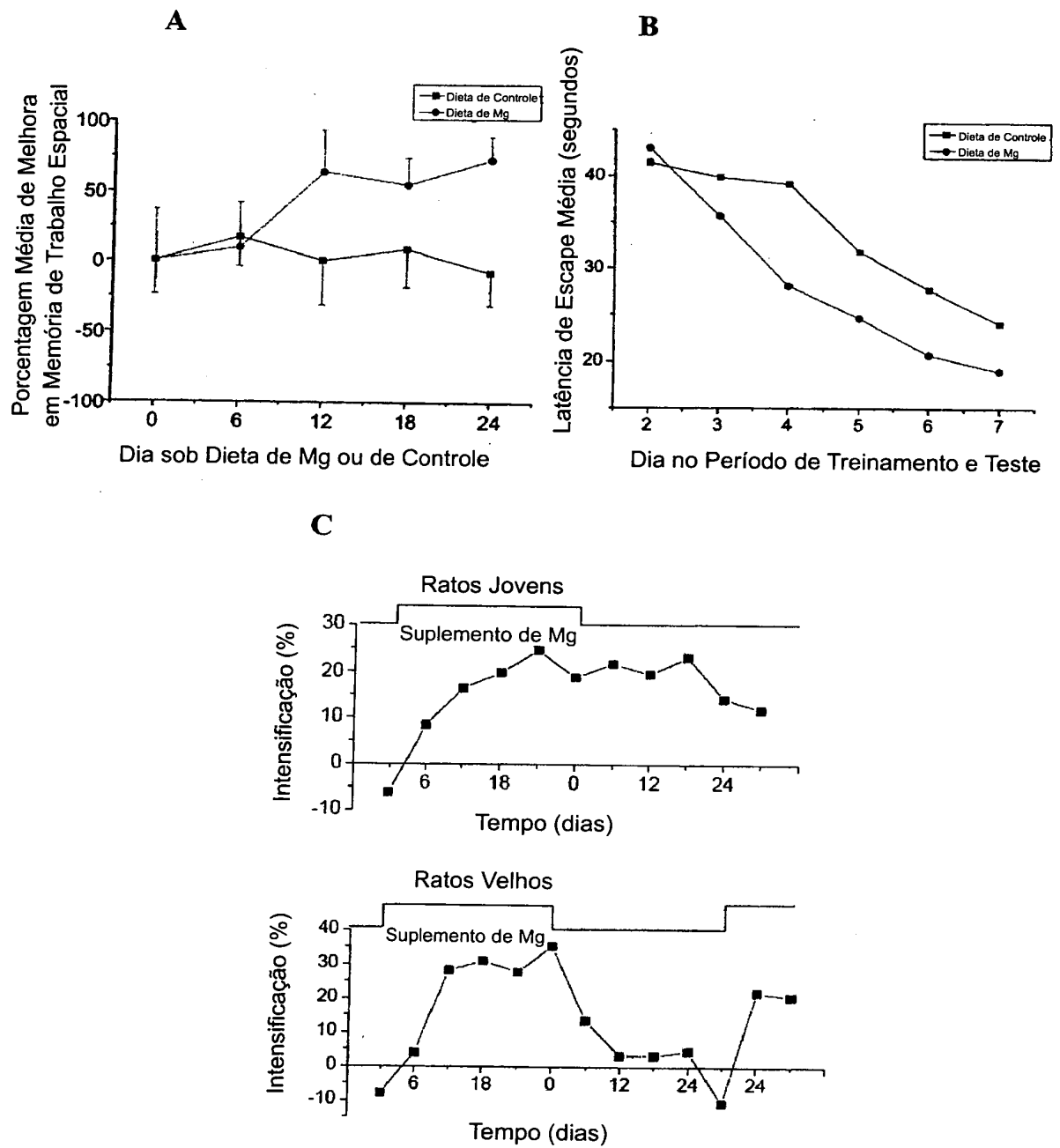


FIG. 8

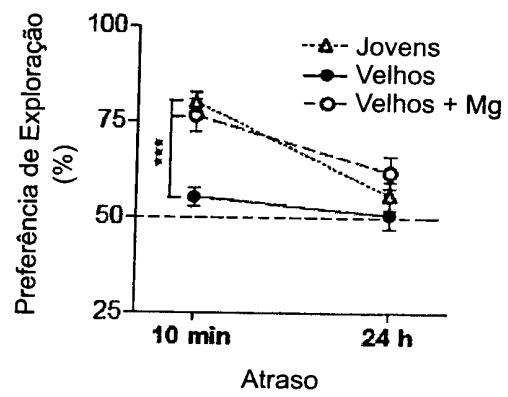
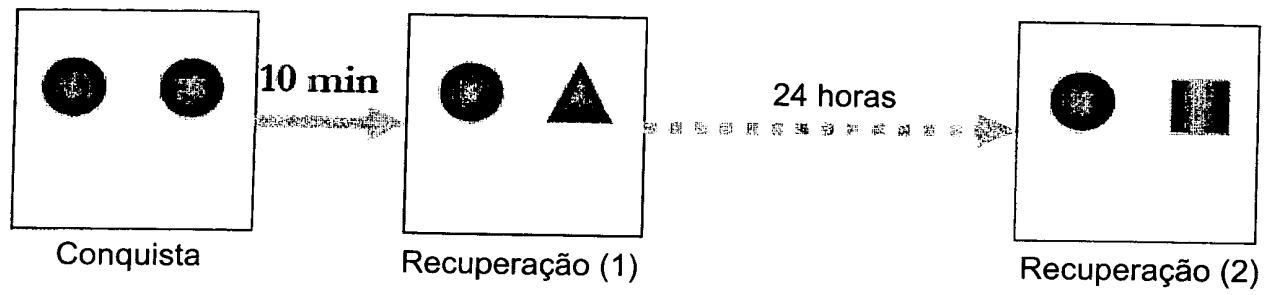
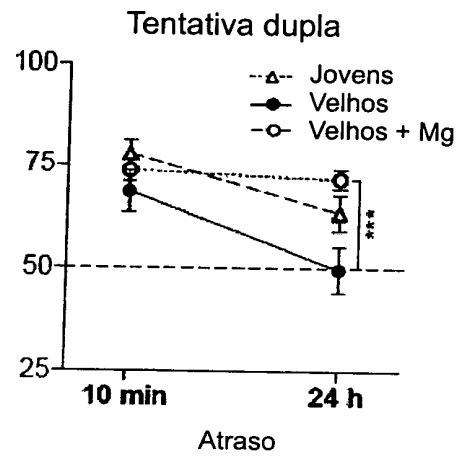
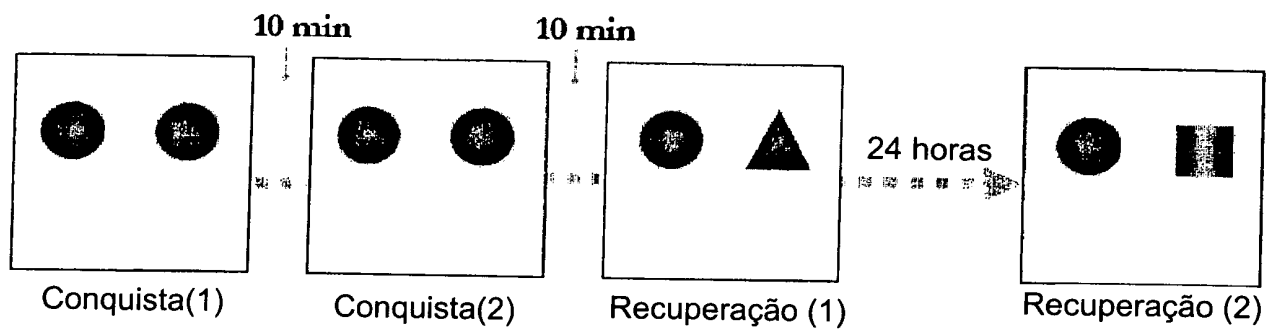
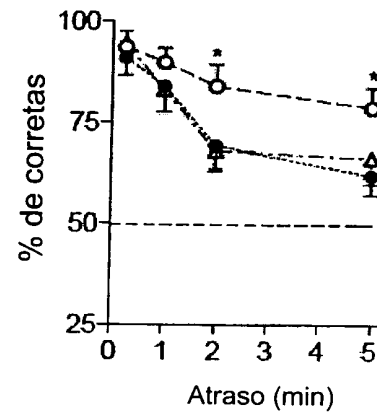
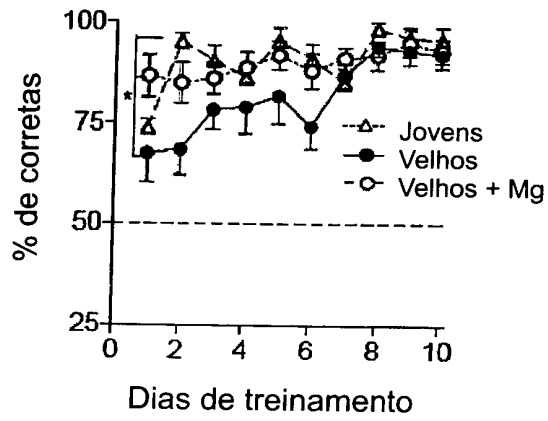
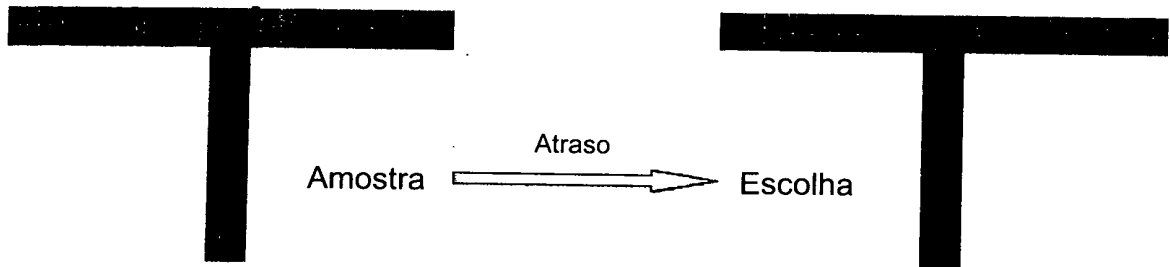


FIG. 9



10/29

FIG. 10



11/29

FIG. 11

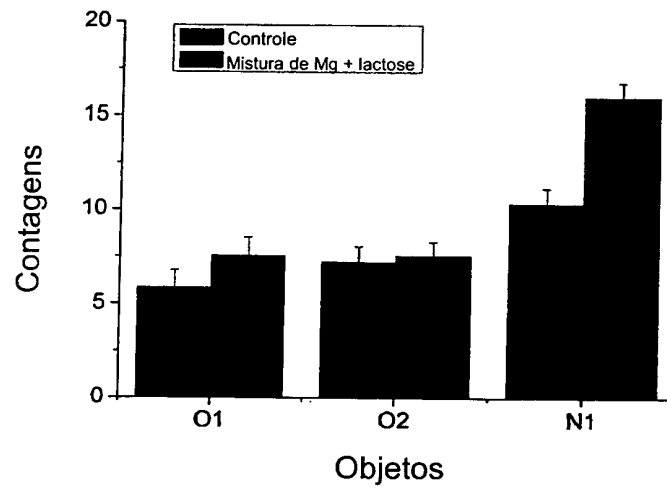


FIG. 12

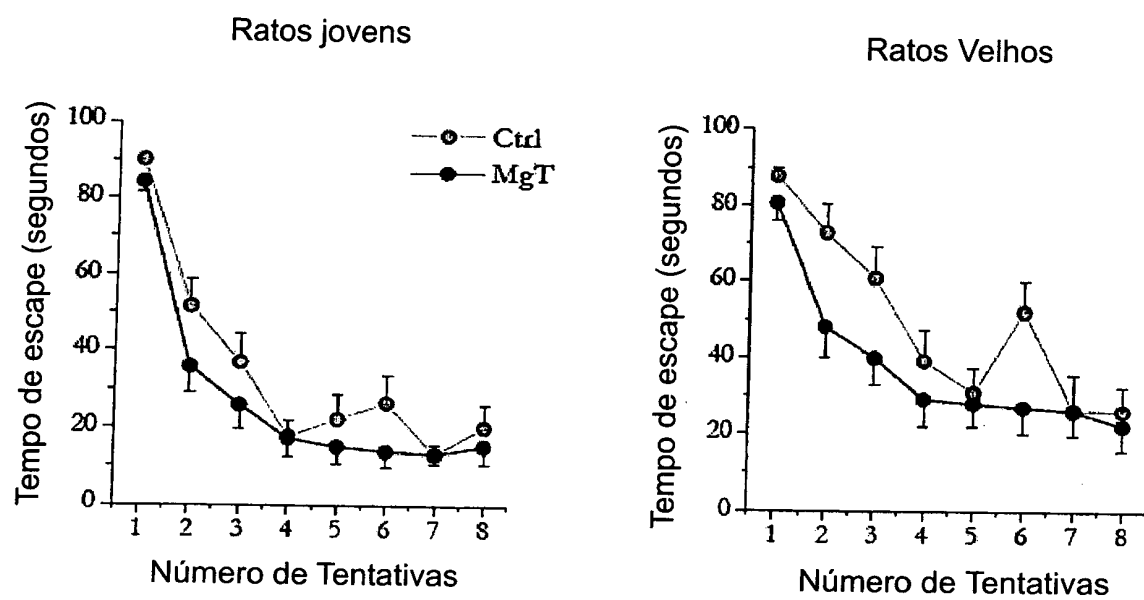


FIG. 13

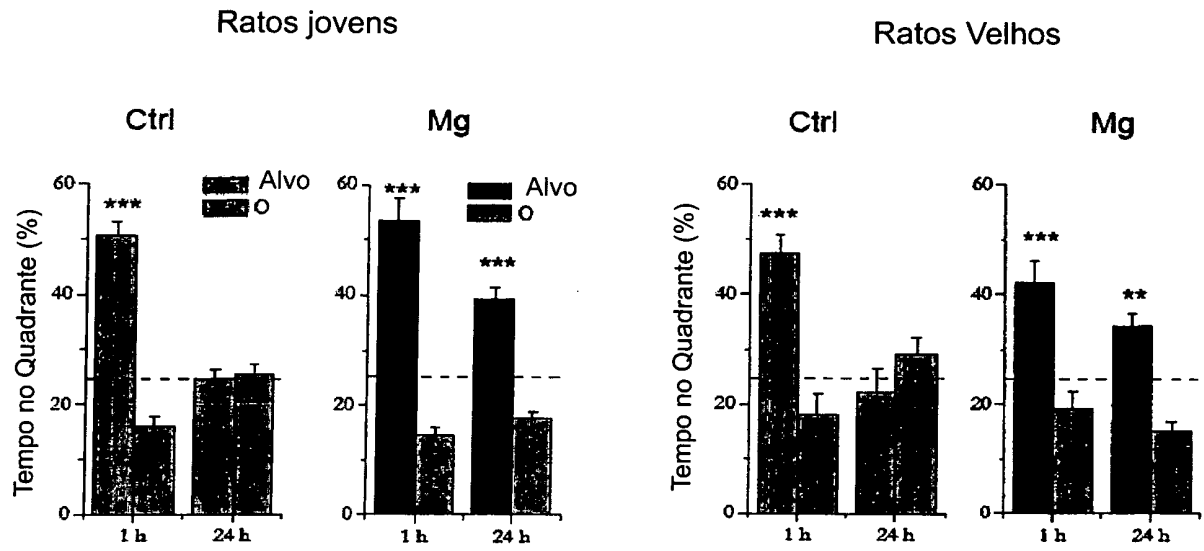


FIG. 14

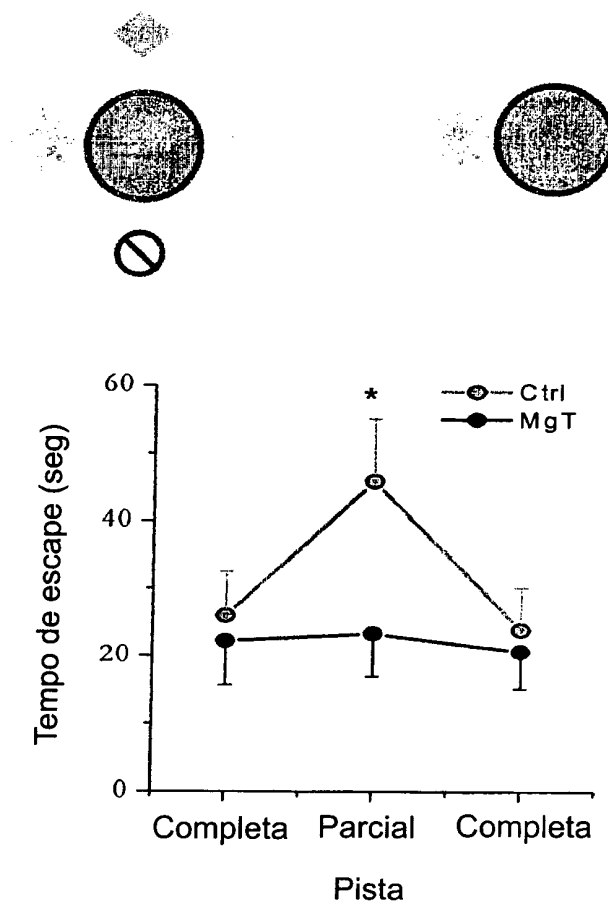


FIG. 15

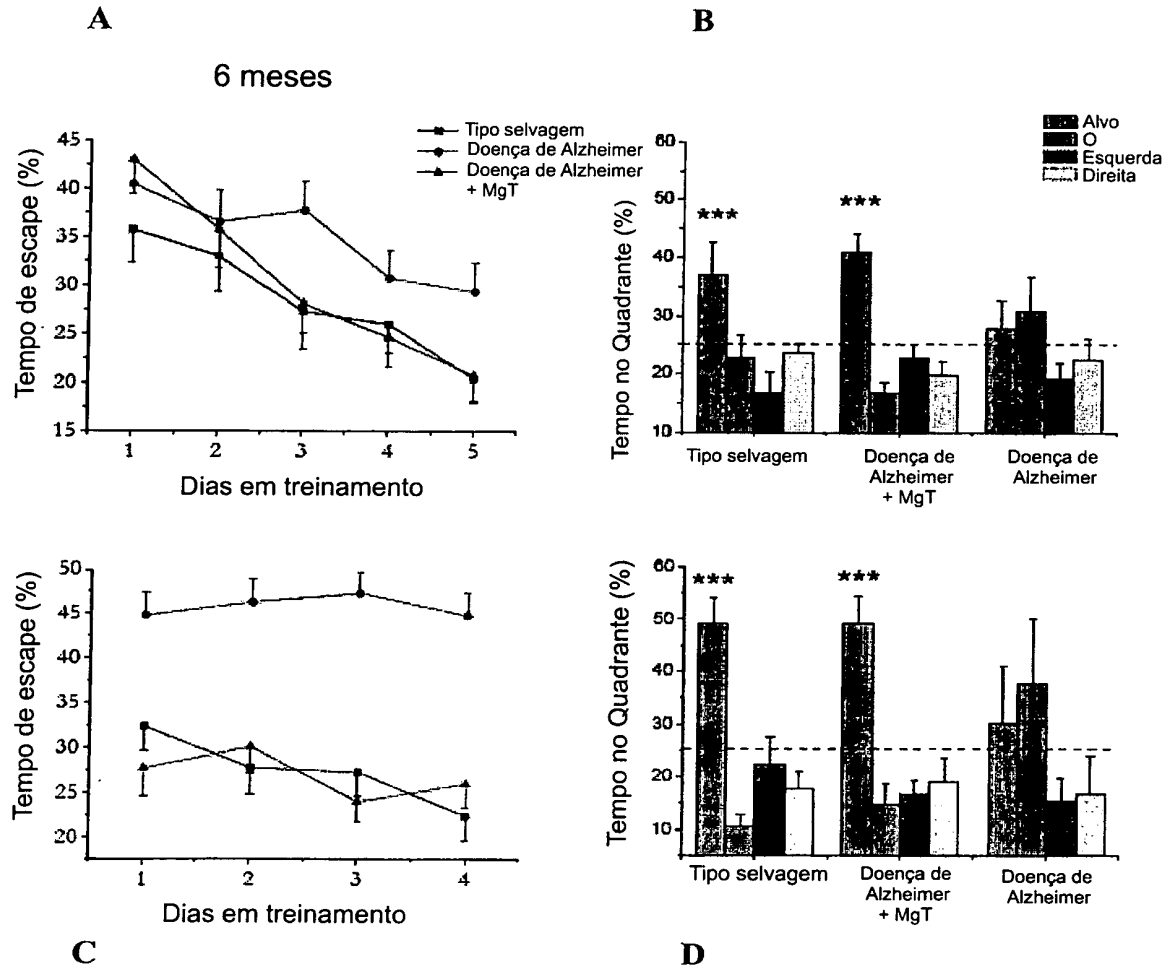


FIG. 16

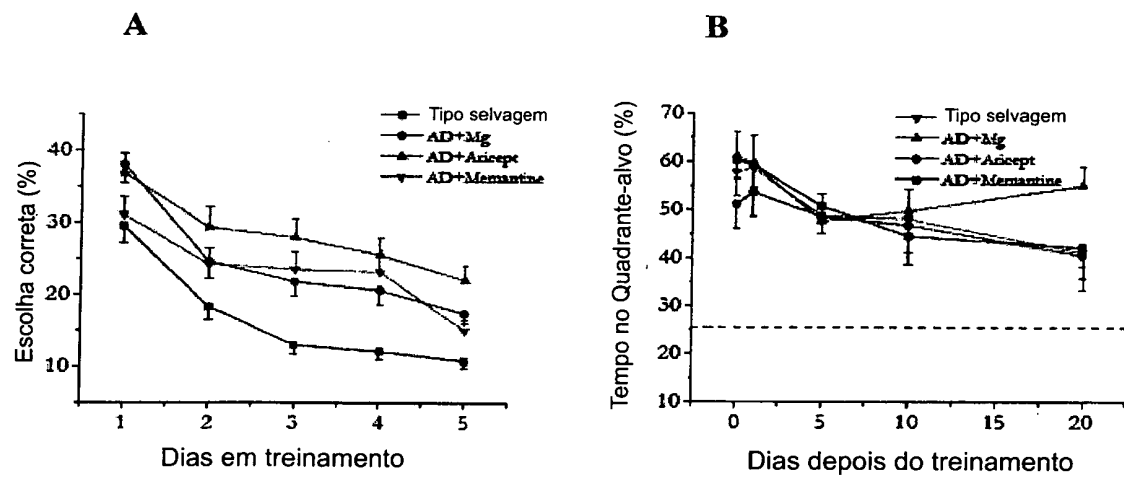


FIG. 17

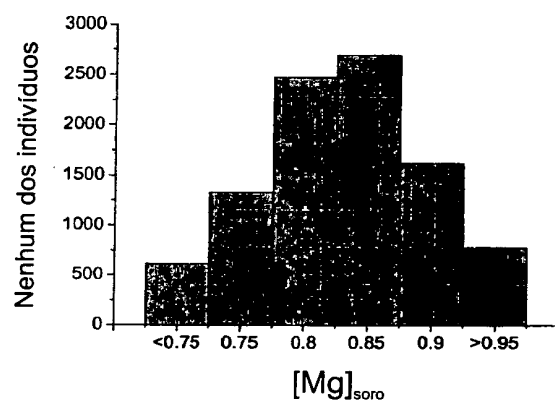


FIG. 18

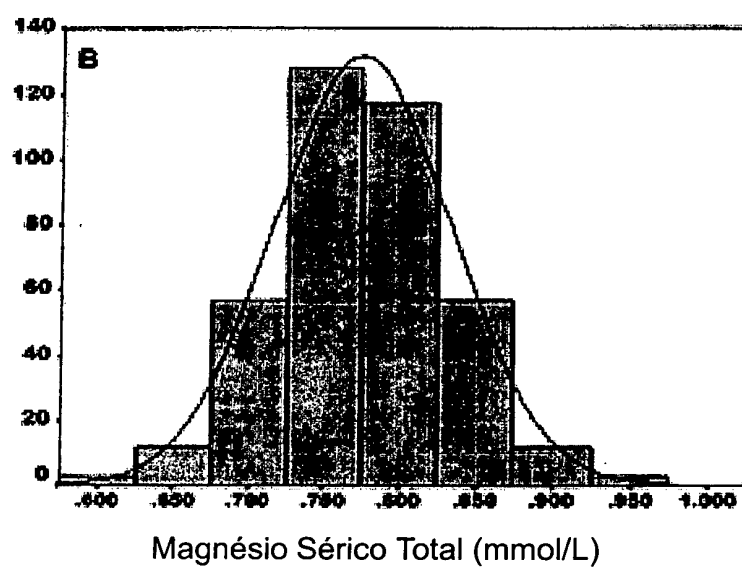


FIG. 19

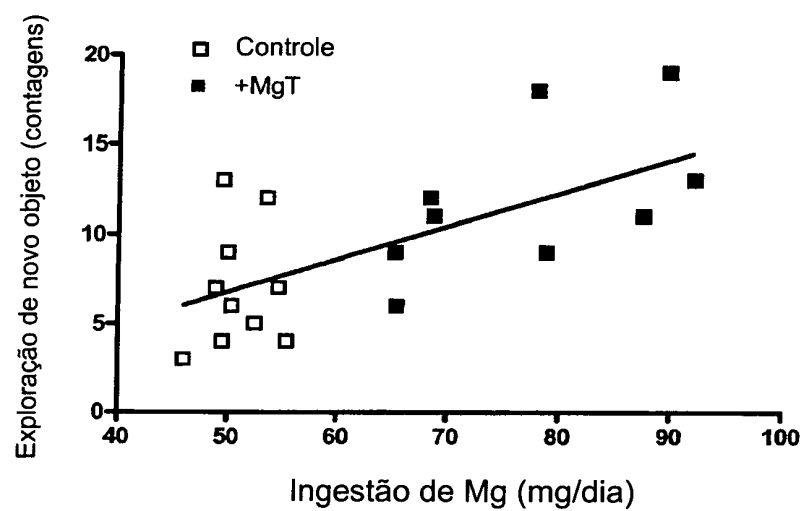


FIG. 20

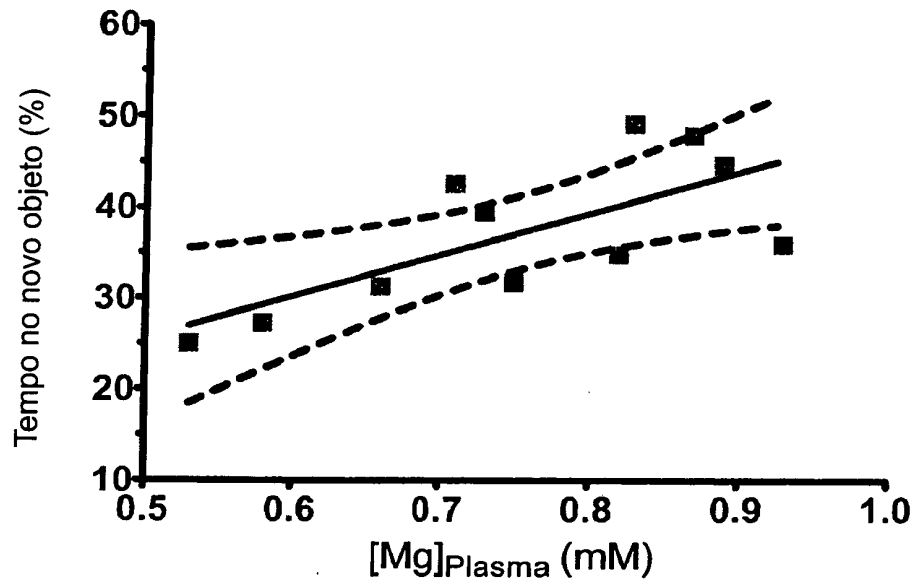


FIG. 21

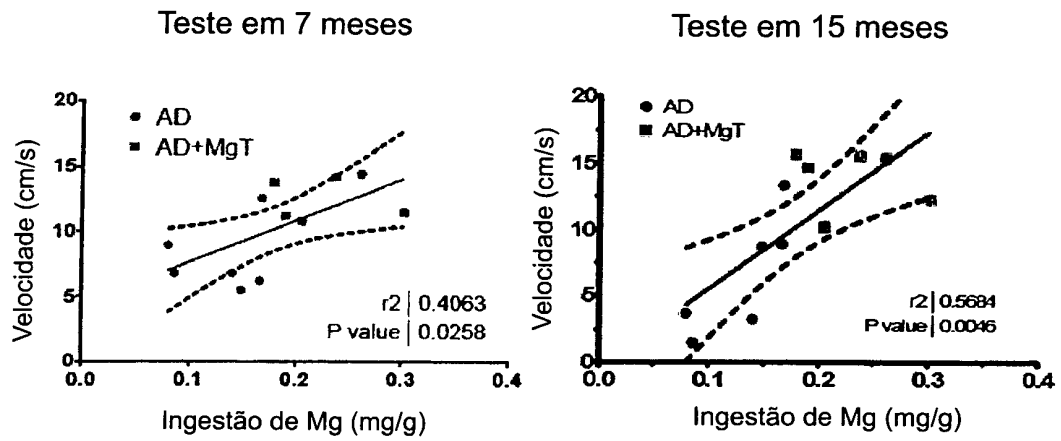


FIG. 22

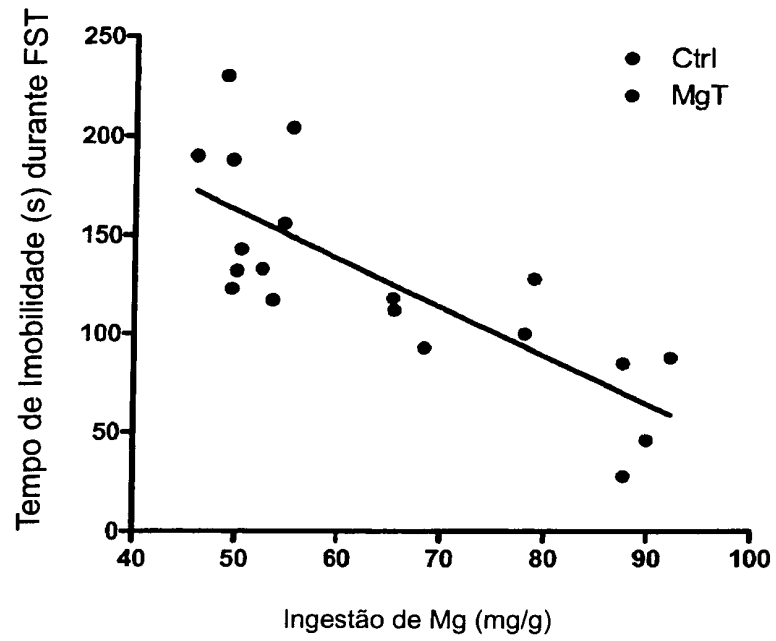


FIG. 23

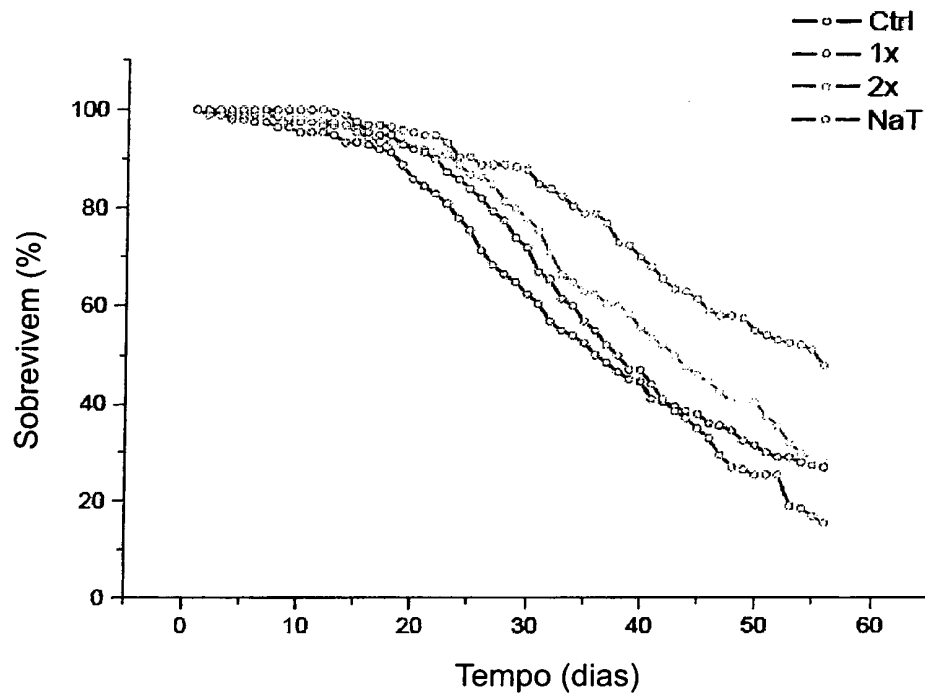


FIG. 24

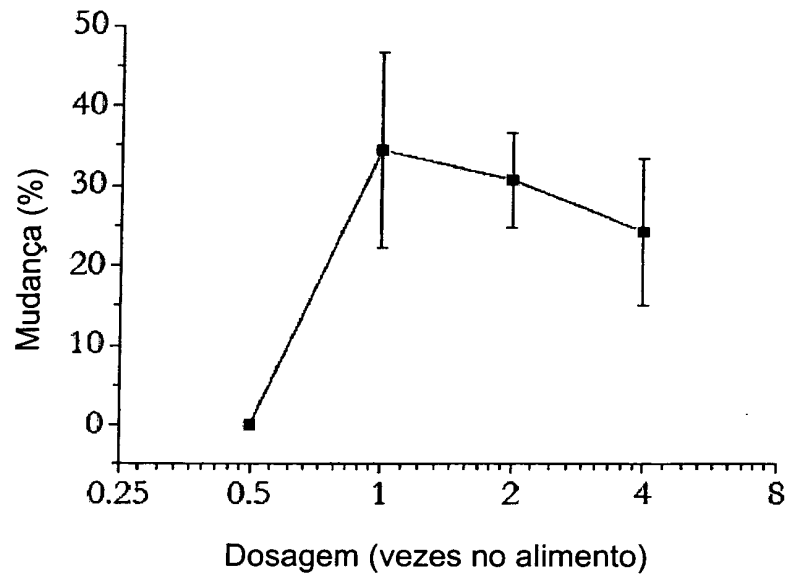


FIG. 25

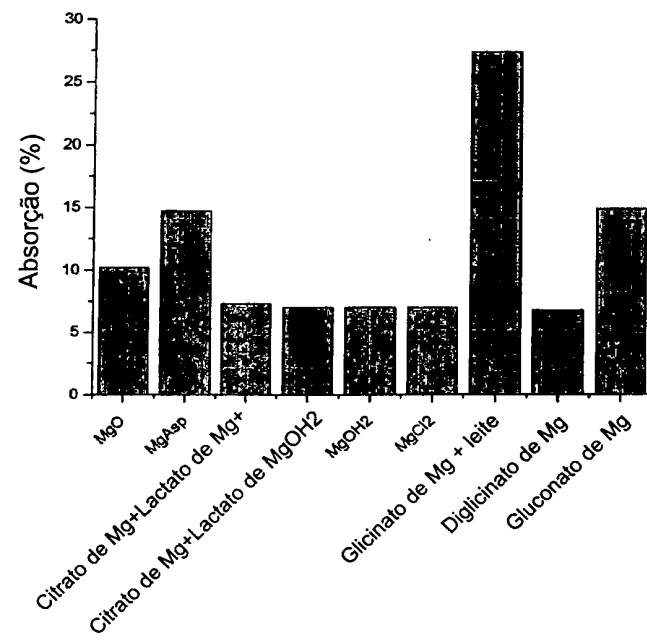


FIG. 26

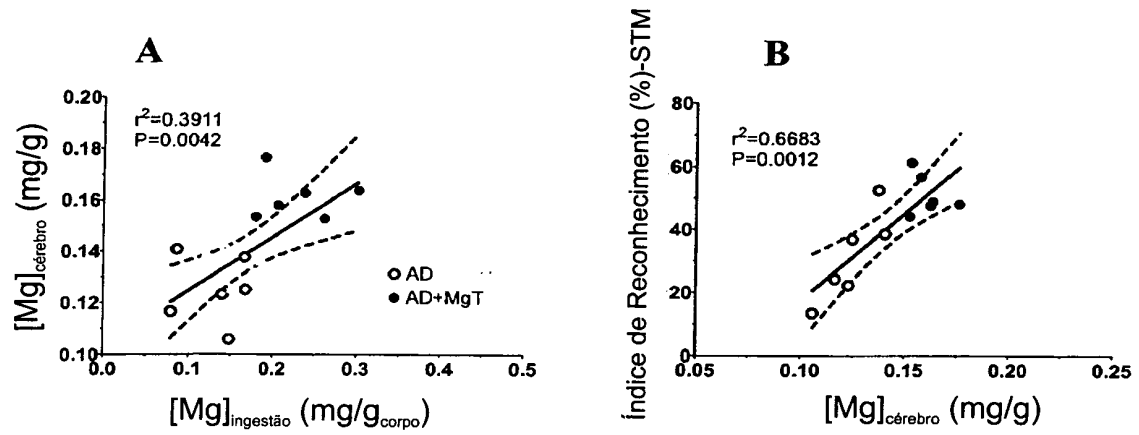
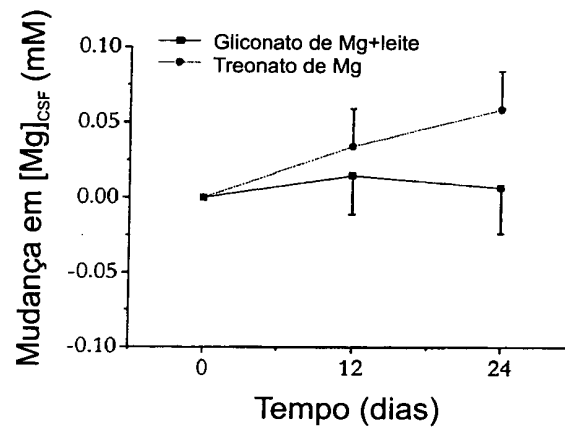
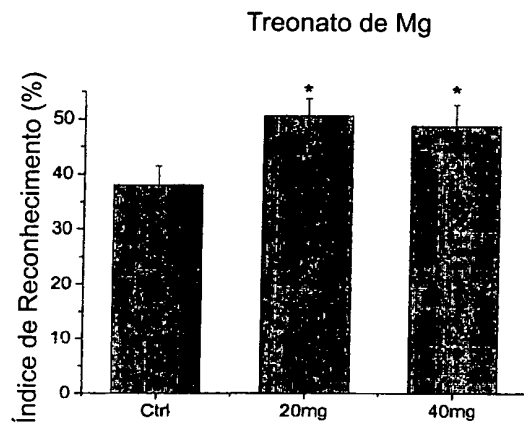


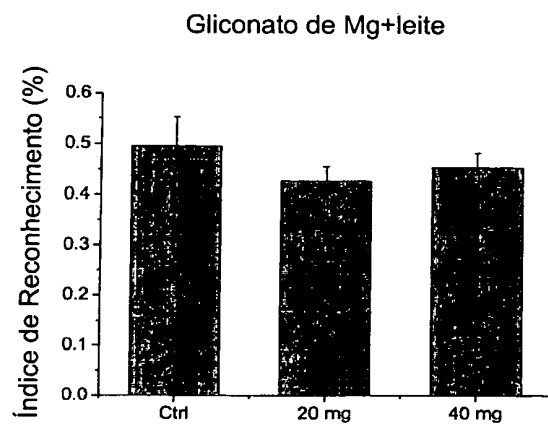
FIG. 27



A



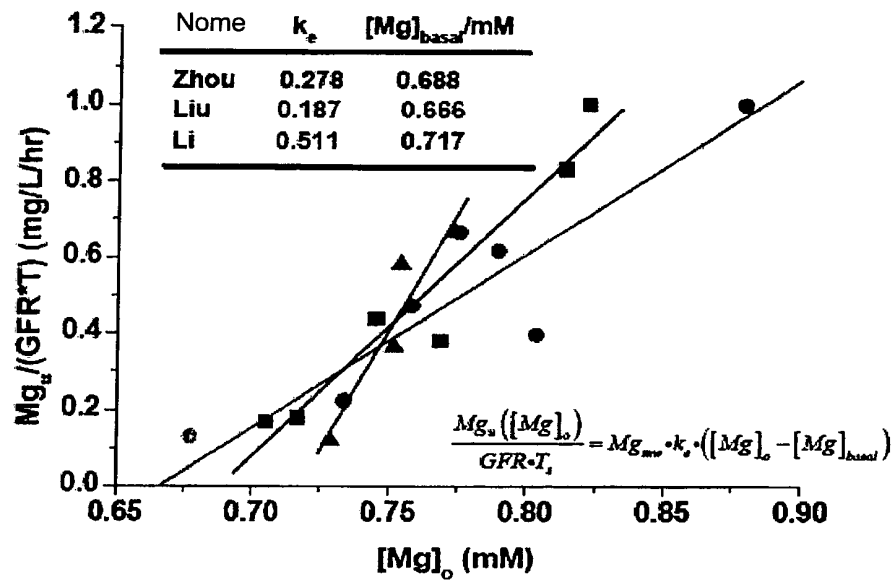
B



C

FIG. 28

A



B

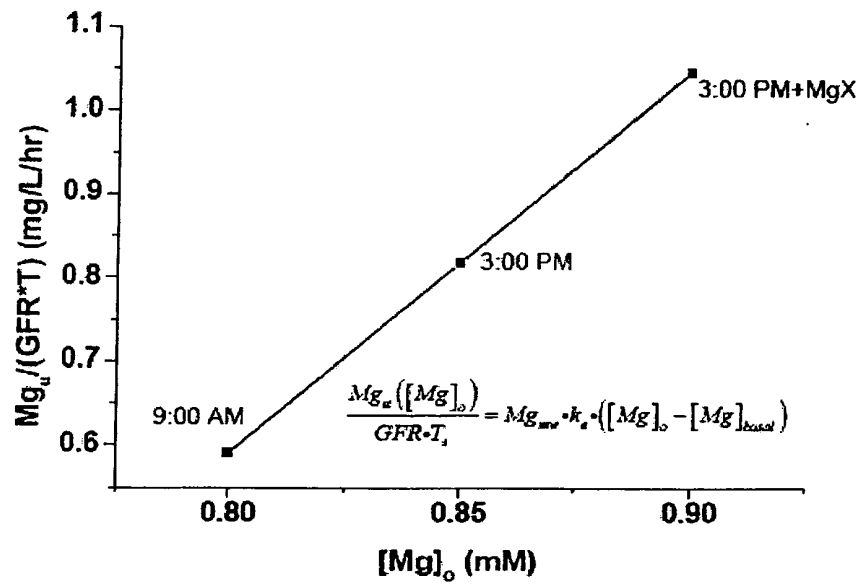


FIG 29

