

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 423 484**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/352** (2006.01)

**A61P 27/02** (2006.01)

**A23L 1/29** (2006.01)

**A23L 1/30** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2008 E 08716727 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2013 EP 2129373**

54 Título: **Uso de genisteína para tratar síndrome de ojo seco**

30 Prioridad:

**02.04.2007 EP 07006833**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**20.09.2013**

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)  
HET OVERLOON 1  
6411 TE HEERLEN, NL**

72 Inventor/es:

**PRUDENCE, KEVIN;  
RIEGGER, CHRISTOPH y  
SCHALCH, WOLFGANG**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**ES 2 423 484 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Uso de genisteína para tratar síndrome de ojo seco

La presente invención se refiere a un nuevo uso de genisteína y a composiciones que la comprenden. De forma más precisa, la presente invención se refiere al uso de genisteína y composiciones que la contienen en el tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco, y a composiciones que la contienen.

El ojo seco se definió por el National Eye Institute (NEI)/Industry Workshop en 1993 como un "trastorno" de la película lacrimal debido a deficiencia o evaporación excesiva de lágrimas, que provoca daño a la superficie ocular interpalpebral, y está asociado con síntomas de incomodidad (Lemp, M.A.: CLAO J. 1995, 21: 221-232). Basándose en el conocimiento actual de ojo seco, también es apropiado considerarlo como un síndrome inflamatorio de la superficie ocular en vez de simplemente una insuficiencia de lágrimas. La expresión queratoconjuntivitis seca (KCS), usada durante décadas para describir la enfermedad de superficie ocular que se desarrolla en el ojo seco, ya admite por definición una etiología inflamatoria. Por lo tanto, en la línea de una definición más amplia de ojo seco, parece más apropiada la expresión queratoconjuntivitis lacrimal (LKC), y se usa ampliamente hoy en día para describir la inflamación de la superficie ocular que se desarrolla a partir del fallo de la película lagrimal (véase, por ejemplo, Pflugfelder, S.C.: "Dry eye: The problem" en Dry Eye and Ocular Surface Disorders, Marcel Decker, Nueva York, 2004, 1-10).

Puesto que LKC tiene causas multifactoriales, se han sugerido diversos tratamientos nuevos supuestamente prometedores, por ejemplo nuevos estimulantes de lágrimas y agentes inmunomoduladores (véase el repaso de Albietsz, J.M., Clin. Exp. Optom. 84, 4-18, 2001), ninguno de los cuales, sin embargo, da realmente buenos resultados. Todavía en el año 2005, la terapia del síndrome de ojo seco es considerada como uno de los problemas clínicos más frustrantes en la práctica oftálmica diaria (Versura, P. et al., Gynecol. Endocrinol. 20, 289-298, 2005). Aunque se han sugerido muchos compuestos químicos como eficaces, y las composiciones que los contienen están comercialmente disponibles, todavía hay una investigación activa de una sustancia capaz de estimular las glándulas lacrimales para producir lágrimas normales cuantitativa y cualitativamente sin provocar efectos secundarios. Versura et al. también dan a conocer que se discute controvertidamente el tratamiento de sustitución hormonal (HRT) de mujeres postmenopáusicas con síntomas de incomodidad ocular, y se recomienda precaución a la hora de prescribir HRT como terapia para ojos secos, debido a que no está claro si la deficiencia de estrógeno o de andrógeno, o su desajuste, altera la función de la superficie ocular.

Por lo tanto, es sorprendente que los solicitantes han encontrado ahora que la genisteína, un compuesto de origen natural en plantas y que se sabe que tiene actividad estrógena, se puede usar en el tratamiento de LKC. La posibilidad de usar genisteína no se ha propuesto todavía, aunque se ha discutido la idea de estrógenos y andrógenos como un tratamiento sistémico (Scott, G. et al., Am. J. Ophthalmol. 39, 1109-10, 2005).

Se han encontrado receptores de genisteína en el timo, haciendo que sean eficaces en la regulación del sistema inmunitario (Cooke, P.S., et al.; J. Nutr. 136, 704-8, 2006). También se ha observado que la genisteína afecta a las rutas de señalización inducidas por andrógenos/estrógenos vía la modulación de la respuesta génica (Takahashi, Y., et al., Mol. Carcinog. 45, 18-25, 2006), y se ha encontrado que la genisteína tiene actividad ocular específica en virtud de sus efectos inhibidores de la neovascularización ocular (Kruse, F.E., et al., Ophthalmology 94, 152-6, 1997).

De este modo, la actividad demostrada del fitoestrógeno genisteína como agente modulador tanto del sistema inmunitario como de la señalización inducida por andrógenos-estrógenos, junto con su actividad paralela frente a la neovascularización, así como la presencia de receptores esteroideos sexuales en la superficie ocular son demostrativos de la actividad sorprendente y previamente no dada a conocer de la genisteína en el tratamiento y prevención de ojos secos.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de genisteína en el tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco, o de LKC, o en la fabricación de composiciones útiles en el tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco, o de LKC, en un ser humano o animal; a un método de tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco, o de LKC, en seres humanos o animales, y a composiciones correspondientes, preferiblemente para aplicación oral, que contienen una cantidad eficaz de genisteína.

El término "genisteína", en el contexto de la presente invención, se refiere a 4',5,7-trihidroxi-isoflavona, y comprende este compuesto en todas las formas, es decir, en forma libre o como sales, y procedente de todas las fuentes, es decir, independientemente de si se prepara sintéticamente, mediante manipulación por ingeniería genética y expresión a partir de microorganismos, o aislado de fuentes naturales y en una forma más o menos concentrada y purificada. El término "genisteína", en el contexto de la presente invención, también se refiere a derivados biológicamente equivalentes de genisteína, es decir, compuestos derivados de genisteína, que aparecen en la naturaleza, es decir, en fuentes naturales o como metabolitos en rutas metabólicas, tales como glucósidos, por ejemplo genistina, o como glucurónicos, o compuestos obtenidos de genisteína mediante modificación química o síntesis. Se incluyen todos los derivados que sean biológicamente equivalentes a genisteína, lo que significa que en el organismo al que se aplican se transforman en la forma farmacológicamente activa de genisteína.

Las composiciones que contienen genisteína y las formas de aplicación de la presente invención son aquellas que son generalmente conocidas en la técnica y ya se usan para el tratamiento y prevención de otras indicaciones médicas y enfermedades. Tales composiciones comprenden preparaciones para aplicaciones sistémicas, por ejemplo oral o parenteral, pero también para aplicaciones locales y tópicas en forma de fármacos así como preparaciones nutraceuticas, tales como comprimidos, cápsulas, colirios, ungüentos, geles, parches o pulverizaciones, u otras formas de dosificación galénicas; disoluciones, concentrados y premezclas para suplementos alimentarios o de piensos, y todo tipo de alimentos o piensos propiamente, incluyendo bebidas.

El término "animales" comprende todos los animales que pueden sufrir síndrome de ojo seco o LKC, especialmente mamíferos, preferiblemente animales de granja, tales como rumiantes, caballos y cerdos; mascotas, tales como gatos y perros, y animales mantenidos en jardines zoológicos.

Las dosis y regímenes de dosificación adecuados se pueden determinar mediante técnicas de hallazgo de intervalos convencionales conocidas por los expertos normales en la técnica. Para el nuevo uso de genisteína, un intervalo típico de administración diaria es de alrededor de 1 a alrededor de 500 mg, preferiblemente de alrededor de 5 a alrededor de 100 mg, si se administra sistémicamente. La administración tópica, especialmente ocular, por ejemplo en forma de colirios, emulsiones para ojos y pulverizaciones para ojos, implicarán típicamente la administración de alrededor de 0,1 mg en total a alrededor de 5 mg en total, preferiblemente 0,5-1 mg en total, de genisteína. Las disoluciones típicas para uso tópico contienen genisteína en una concentración de 0,0025-5%, preferiblemente al menos 0,01% y preferiblemente hasta 1%, más preferiblemente hasta 0,5%, lo más preferible hasta 0,05%, p/v. Una concentración preferida es 100  $\mu$ M. En caso de derivados de genisteína, estos valores se han de adaptar correspondientemente a sus biodisponibilidades en comparación con la biodisponibilidad de la propia genisteína. Existen en la bibliografía existente, por ejemplo los documentos WO 99/45920 o WO 98/26784, más detalles sobre formulaciones adecuadas en caso de composiciones farmacéuticas de genisteína en su nuevo uso presente.

Las composiciones farmacéuticas que contienen genisteína se pueden preparar mediante procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la genisteína se puede formular en comprimidos, cápsulas, polvos, suspensiones, disoluciones para administración parenteral y tópica, incluyendo administración intravenosa, intramuscular y subcutánea, y en disoluciones para aplicación en parches para aplicación transdérmica con vehículos habituales y convencionales, aglutinantes, diluyentes, y excipientes. En una realización preferida, una formulación farmacéutica para uso en los métodos de la presente invención incluye una genisteína que es al menos 40% pura, preferiblemente al menos 85% pura. Los vehículos farmacéuticamente aceptables inertes útiles para formar formulaciones farmacéuticas incluyen almidón, manitol, sulfato de calcio, fosfato dicálcico, estearato de magnesio, derivados silícicos, y/o azúcares tales como sacarosa, lactosa, y glucosa. Los agentes aglutinantes incluyen carboximetilcelulosa y otros derivados de celulosa, gelatina, gomas naturales y sintéticas, incluyendo alginatos tales como alginato de sodio, polietilenglicol, ceras y similares. Los diluyentes útiles en la invención incluyen un aceite adecuado, disolución salina, disoluciones de azúcar tales como dextrosa acuosa o glucosa acuosa, y glicoles tales como polietileno o polipropilenglicol. Otros excipientes incluyen lubricantes tales como oleato de sodio, acetato de sodio, estearato de sodio, cloruro de sodio, benzoato de sodio, talco, estearato de magnesio, y similar; los agentes disgregantes incluyen agar, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, almidón, goma de xantana, y similar; y los vehículos adsorbentes tales como bentonita y caolín. También se pueden añadir a las formulaciones farmacéuticas agentes colorantes y saborizantes.

El uso de genisteína en formulaciones nutrientes, composiciones dietéticas o alimentos funcionales se logra según métodos conocidos en la técnica, descritos, por ejemplo, en los documentos WO 2005/063223 o US 6.001.368.

La composición dietética según el método de la presente invención es un ingrediente alimentario o de pienso o un alimento o pienso que contiene genisteína, y se puede preparar añadiendo genisteína a un alimento o a un ingrediente alimentario en el proceso de preparación de un alimento, independientemente de la fuente de la que deriva la genisteína. Los alimentos y piensos a los que se pueden añadir compuestos de genisteína incluyen la mayoría de todos los alimentos y piensos, incluyendo bebidas y agua para beber. Por ejemplo, la genisteína se puede añadir a alimentos que incluyen, pero no se limitan a, carnes tales como carnes molidas, carnes emulsionadas, carnes marinadas, carnes secas y salchichas; alimentos funcionales; bebidas tales como bebidas nutricionales, bebidas deportivas, bebidas fortificadas proteicas, limonadas, zumos, aguas minerales, productos lácteos, leche, alternativas a la leche, y bebidas para perder peso o energizantes; quesos tales como quesos duros y blandos, queso crema, y requesón; postres congelados tales como helado, leche helada, postres congelados bajos en grasa, y postres congelados no lácteos; yogures; sopas; pudines; productos de panadería; tartas y galletas; aliños de ensaladas; salsas y untes tales como mayonesa y salsas de patatas; y productos de aperitivos extruidos. La genisteína se añade al alimento en una cantidad seleccionada para suministrar una dosis deseada de la misma al consumidor del alimento. En una realización preferida, una composición de genisteína a añadir a un alimento para uso como composición dietética según los métodos de la presente invención contiene al menos 40% de genisteína, preferiblemente al menos 85% de genisteína.

El ensayo de la eficacia de genisteína como tratamiento para el síndrome de ojo seco se ha realizado usando modelos de animales conocidos para esta afección según lo siguiente:

5 El modelo OVX: Las ratas hembra Sprague-Dawley (120-160 g) ovariectomizadas (OVX) son un modelo para la afección de menopausia humana (Pflugfelder, S.C. et al. Dry eye and ocular surface disorders. Marcel Dekker, Nueva York, 2004), y por lo tanto sirve como un modelo natural de la enfermedad de la superficie de ojo seco. Además, los animales OVX se pueden tratar con estradiol subcutáneo a fin de comparar el efecto de esta sustitución hormonal con el tratamiento con genisteína.

Modelo de escopolamina: Otro modelo bien aceptado de ojo seco es el modelo de escopolamina, que utiliza inyecciones subcutáneas (5 mg en 10 ml) o parche dérmico o dosificación en gel (Durson et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 43: 632-8, 2002) de escopolamina para inducir una afección de ojo seco en ratas mediante bloqueo parasimpático de la producción de lágrima natural.

10 Estos modelos y sus variaciones se usaron para ensayar la eficacia de genisteína, suministrada como una mezcla de pienso (dosis baja de 50 mg/kg y dosis elevada de 250 mg/kg) para mejorar los efectos de ojo seco. Además, un grupo de ensayo sirvió como grupo de control, recibiendo solamente pienso de vehículo sin isoflavonoides añadidos.

Los grupos de animales de ensayo tuvieron una población con números iguales de animales (ratas) según lo siguiente:

Grupos de ensayo de ojo seco

OVX:	Genisteína de dosis elevada
	Genisteína de dosis baja
	Vehículo - sin isoflavonoides
Escopolamina:	Genisteína de dosis elevada
	Genisteína de dosis baja
	Vehículo - sin isoflavonoides
Grupos de control	
Controles positivos:	OVX inyecciones de estradiol
	Genisteína de dosis elevada
	Genisteína de dosis baja
	Vehículo - sin isoflavonoides
Controles negativos:	Tipo salvaje
	Vehículo - sin isoflavonoides

15 El ensayo clínico in vivo de animales suplementados con genisteína o con vehículo a fin de evaluar el efecto de genisteína se logró mediante examen ocular con un biomicroscopio de lámpara de ranura, usando los colorantes superficiales fluoresceína y rosa de Bengala.

20 La fluoresceína se usó para observar cualquier pérdida de células epiteliales corneales local, visible como tinción salpicada de puntos, así como cualquier ruptura en la integridad epitelial según se evidencia mediante tinción intersticial. La fluoresceína también se usó para medir la duración de tiempo hasta la ruptura (tiempo hasta la ruptura de la lágrima -TBUT) de la película lacrimal, que es una medida de la evaporación. El intervalo normal de TBUT es 10 segundos, pero la comparación de animales experimentales frente a animales de control fue la comparación de resultado principal.

25 El rosa de Bengala es un colorante lipídico orgánico que tiñe una membrana celular nativa, y por lo tanto se usa para detectar células epiteliales corneales que tienen un proceso de humectación inadecuado. La medida del resultado para la tinción con rosa de Bengala fue cualquier tinción positiva, especialmente en comparación con exámenes de los animales de control.

30 El volumen de lágrimas se evaluó usando hilos absorbentes impregnados con rojo fenol (ensayo Zone Quick). Las medidas del resultado están de acuerdo con los criterios publicados en las instrucciones del ensayo, así como en comparación con los resultados de animales de control.

La Figura 1 demuestra los efectos de la suplementación de genisteína sobre la producción de lágrimas en ratas tratadas con escopolamina, un modelo de animal consolidado para estudiar el síndrome de ojo seco. El volumen de

lágrimas se monitorizó mediante el ensayo Zone Quick. Este ensayo en vivo es una medida estandarizada de la producción de lágrimas. Consiste en un hilo impregnado con rojo fenol, que provoca un cambio de color de la longitud del hilo que se humedece con lágrimas cuando el hilo se aplica al lago lagrimal. La longitud (en mm) del hilo humedecido es proporcional al volumen de lágrimas producido.

5 Abreviaturas:

0-CON, 0-SCOP:	cada 8 animales de control (no en escopolamina o en escopolamina)
50-SCOP:	8 animales (en escopolamina) suplementados con genisteína 50 ppm
250-SCOP:	8 animales (en escopolamina) suplementados con genisteína 250 ppm
MIDTEST =	período de suplementación 2,5 semanas
FINALTEST =	período de suplementación 5,0 semanas

Resultados:

10 Como se puede observar, la suplementación de ratas tratadas con escopolamina con genisteína restauró su volumen de lágrimas casi hasta los valores de control, una tendencia que fue más pronunciada en el grupo suplementado con 250 mg que aquél con 50 mg, indicando la existencia probable de una relación de respuesta con la dosis.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de genisteína en la fabricación de una composición para el tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco o de queratoconjuntivitis lacrimal en un ser humano o animal que lo necesite.
2. El uso de la reivindicación 1, en el que la composición es para aplicación sistémica, preferiblemente oral o tópica.
- 5 3. Una composición para uso en el tratamiento y prevención de síndrome de ojo seco o de queratoconjuntivitis lacrimal, caracterizada por que contiene una cantidad eficaz de genisteína.
4. La composición para uso según la reivindicación 3, para administración sistémica, preferiblemente oral.
5. La composición para uso según la reivindicación 3 o reivindicación 4, que es una forma de dosificación farmacéutica.
- 10 6. La composición para uso según la reivindicación 3 o reivindicación 4, que es un alimento o pienso o un suplemento correspondiente.

Figura 1: Suplementación con Genisteína de Ratas tratadas con Escopolamina: Efectos sobre la Producción de Lágrimas

