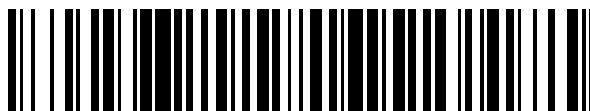


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 427 170**

51 Int. Cl.:

A61P 13/08 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 36/82 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.07.2005** **E 05768182 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2013** **EP 1781375**

54 Título: **Mezcla de polifenoles para la prevención de la aparición de cáncer de próstata en una persona diagnosticada con alto grado de neoplasia intraepitelial de próstata (HGPIN)**

30 Prioridad:

27.07.2004 IT BZ20040037

16.02.2005 IT BZ20050004

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

29.10.2013

73 Titular/es:

GENPROFILER S.R.L. (100.0%)

CORSO ITALIA 13

39100 BOLZANO, IT

72 Inventor/es:

BETTUZZI, SAVERIO;

CORTI, ARNALDO y

CORVETTA, SERGIO

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 427 170 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

Mezcla de polifenoles para la prevención de la aparición de cáncer de próstata en una persona diagnosticada con alto grado de neoplasia intraepitelial de próstata (HGPIN)

5 Las propiedades medicinales del té verde chino (*Camellia sinensis*) se conocen desde la antigüedad. Basándose en el conocimiento médico actual, el té posee numerosas propiedades beneficiosas entre las cuales se encuentran propiedades estimulantes, digestivas, diuréticas, analgésicas y destoxificantes. Los efectos beneficiosos sobre la salud atribuidos al té verde se deben al hecho de que, a diferencia del té negro o de otros tipos de té, se prepara de acuerdo con un procedimiento capaz de evitar procesos de fermentación y permitir una mejor conservación de numerosas sustancias y principios activos en las hojas, y entre éstas una parte importante de los efectos positivos del té verde para la salud humana se atribuye particularmente a las catequinas, compuestos polifenólicos que tienen acción antioxidante poderosa y son capaces de eliminar radicales libres.

15 Las catequinas son una serie de compuestos a la cual pertenecen diferentes moléculas. De hecho, el contenido de polifenoles del té verde representa aproximadamente el 30% del peso seco y está constituido por flavanoles, flavandioles, flavonoides y ácidos fenólicos. El té verde chino es por tanto una fuente primaria excelente para purificación en grandes cantidades de catequinas, si bien se sabe que estas moléculas son extraíbles también de otras plantas que suministran cantidades menores de las mismas aunque el material obtenido exhibe las mismas propiedades que las obtenidas del té chino. En cualquier caso, los flavanoles representan la mayor parte de los polifenoles del té verde y se conocen comúnmente por el nombre de catequinas. Las catequinas más importantes del té verde son las siguientes:

20 (-)-3-galato de epigallocatequina (EGCG),

(-)-epigallocatequina (EGC),

(-)-3-galato de epicatequina (ECG),

(+)-3-galato de galocatequina (GCG),

(-)- epicatequina (EC),

25 (+) galocatequina (GC),

(+)-catequina (C).

30 Los alcaloides como cafeína, teobromina y teofilina representan aproximadamente 4% del peso seco de las hojas del té, y en la preparación descrita a continuación por los autores de esta invención se eliminan los mismos a fin de prevenir su administración y posibles efectos indeseables (véase más adelante). Típicamente, una taza de té verde (200 ml) contiene 80-90 g de catequinas, de las cuales EGCG representa más del 50% (1). Los flavanoles se oxidan fácilmente y forman las O-quinonas correspondientes. Flavonoles y quinonas pueden actuar como aceptores o como donantes de hidrógeno. Adicionalmente, los polifenoles del té reaccionan eficientemente con las especies de oxígeno reactivas. En la estructura de los flavanoles, los grupos hidroxilo en posición 5-7 y el oxígeno en posición 1 hacen los átomos de carbono en las posiciones 6 y 8 fuertemente nucleófilos durante la oxidación enzimática y no enzimática. Los flavonoles del té pueden contribuir a la condensación oxidante por la formación de enlaces C-O o C-C en reacciones de polimerización oxidante. Existen tres mecanismos por los cuales los polifenoles ejercen sus efectos antioxidantes, a saber:

40 a) la presencia de la estructura de 'catecol' confiere un poder tranquilizante fuerte a las catequinas del té, que puede atrapar los iones férrico y ferroso libres, que son necesarios para la formación de los radicales de oxígeno reactivos, y disminuir su concentración celular,

b) EGCG, EGC y ECG llevan a cabo una acción muy eficaz en la eliminación de los radicales aniónicos superóxido e hidróxido, dos de las especies de oxígeno más reactivas que pueden deteriorar el DNA y otras moléculas de la célula y pueden iniciar la peroxidación de los lípidos, y0

45 c) los flavanoles pueden reaccionar con los radicales peróxido y esto puede poner fin a las reacciones en cadena de la peroxidación de los lípidos. Las especies reactivas de oxígeno pueden desempeñar un papel importante en la carcinogénesis por deterioro del DNA, alteración de la expresión génica o influencia en el crecimiento y la diferenciación celulares.

50 Estudios recientes han demostrado que los compuestos polifenólicos administrados en la forma de infusión o polvo de té verde son absorbidos rápidamente al nivel gástrico y se distribuyen en la fracción proteínica del plasma y en la fracción que contiene las lipoproteínas de alta densidad (HDL). El contenido de catequinas del plasma aumenta

proporcionalmente a la cantidad ingerida. La semivida de EGCG en plasma es ligeramente superior a 5 horas. Diferentes metabolitos de las catequinas han sido identificados en plasma y orina en la forma de compuestos metilato o conjugados con ácido glucurónico o sulfatos. Teniendo en cuenta que se ha demostrado que el poder antioxidante en plasma continúa durante un periodo de tiempo más largo que la vida media de los polifenoles ingeridos, se cree que los metabolitos de las catequinas poseen propiedades beneficiosas para el hombre. En cualquier caso, la administración cada 6 horas de la formulación descrita asegura una contribución constante de los principios activos y en particular de EGCG, que parece ser el componente de mayor actividad.

La capacidad arriba mencionada de actuar como antioxidantes potentes tiene como resultado que los polifenoles especialmente el EGCG actúan como factores anti-estrés y anti envejecimiento poderosos, condiciones que juegan ambas un papel causal en una patología como el cáncer de próstata que es claramente correlacionarle con el envejecimiento del hombre. Adicionalmente, debe subrayarse que el EGCG y las otras catequinas se han revelado en sí mismos en diferentes modelos experimentales como capaces de inhibir los efectos de la testosterona. Es sabido que la acción androgénica está implicada también en la génesis de las patologías prostáticas y en particular del cáncer de próstata. Esto constituye el fundamento científico que demuestra de qué modo la administración sistémica de una formulación capaz de aportar una dosis adecuada de EGCG y catequinas puede ser eficaz en la prevención química del cáncer de próstata en pacientes de riesgo.

Elementos adicionales se deducen de numerosos estudios *in vitro* que han demostrado una posible función anti-proliferativa y antitumoral de estos compuestos. Estos mismos estudios en animales de laboratorio y en el hombre han demostrado por otra parte la ausencia de toxicidad u otros efectos colaterales de las catequinas administradas hasta 1 g por día.

Estas moléculas que tienen tales propiedades interesantes no son típicas sólo del té verde chino sino que están presentes también en numerosas otras clases de plantas tales como la vid y productos plantas típicos del entorno Mediterráneo. Por tanto, está claro que cualquier producto que haga uso de una mezcla de estos compuestos o de algunas moléculas purificadas incluso procedentes de otras fuentes que no son el té verde chino está cubierto por esta patente intelectual.

Evidencia experimental de la eficacia de EGCG y de una mezcla de CATEQUINAS (polifenoles) para la prevención química de la aparición del cáncer de próstata.

US 2003/105.030 da a conocer composiciones farmacéuticas y métodos para tratamiento de trastornos relacionados con andrógenos, tales como la hiperplasia prostática y el cáncer de próstata. Se han descrito composiciones que contienen 100-1000 mg de EGCG y en particular las formas de dosificación pueden ser tabletas, tabletas en suspensión, píldoras, pastillas, bolsitas, sellos o cápsulas que comprenden 0,1%-25% p/p de galato de epigallocatequina.

EP 986.958 describe un producto para preparación directa de una bebida de té verde descafeinado lista para beber que comprende al menos 75% del contenido inicial de EGCG, con actividad anticancerígena.

Ahn W-S et al.: "Protective effect of green tea extracts (polyphenon E and EGCG) on human cervical lesions", European Journal of Cancer Prevention vol.12, n° 5 (2003), páginas 383-390 describe cápsulas de 200 mg de Polyphenon E o EGCG de extracto de té verde tomadas diariamente por vía oral.

Ullmann U et al.: "A single ascending dose study of epigallocatechin gallate in healthy volunteers "The Journal of International Medical Research vol. 31, n° 2 (2003)p. 88-101 describe EGCG oral en dosis simples de 50 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg, 80 mg o 1600 mg en 60 voluntarios varones sanos.

WO0033.832 describe cápsulas que comprenden 200 mg de Polyphenon E - (composición de Polyphenon ETM: (-) galato de epigallocatequina 54,8%, (-) epicatequina 14,7%, (-)epicatequina 14,7%, (-) galato de epicatequina 6,7%, (-) epigallocatequina 6,0%, (-) galato de galocatequina 4,0%).

Gupta Sanjay et al.: "Inhibition of prostate carcinogenesis in TRAMP mice by oral infusion of green tea polyphenols", Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America vol. 98, n° 18, (2001), p. 10350-10355 describe los efectos de los polifenoles del té verde sobre la progresión y metástasis del cáncer de próstata del ratón TRAMP.

Crowell James A.: "Preclinical and clinical development of Polyphenon E for cancer prevention" Abstracts of papers American Chemical Society, vol. 226, n° 1-2 (2003) page AGFD 64 da conocer el desarrollo preclínico y clínico de la prevención del cáncer de próstata por Polyphenon E.

Hastak et al.: "Role of p53 and NF- κ B in epigallocatechin-3-gallate-induced apoptosis of IncaP cells" Oncogene vol. 22, n° 31, (2003) p. 4851-4859 da a conocer la inducción de apoptosis por EGCG en las células LNCaP por fosforilación de p53 y regulación decreciente de NF- κ B. El consumo oral de polifenoles de té verde inhibe la

carcinogénesis prostática en el modelo de cáncer de próstata del ratón transgénico.

Zhu M et al.: "Pharmacokinetics and system linearity of tea catechins in rat" *Xenobiotica*, vol 31, n° 1, (2001) p. 51-60 da a conocer dosis intravenosas (50, 100, 200 y 300 mg/kg) de una fracción de té descafeinada que contiene (-) epicatequina (EC: 5%), (-) galato de epigallocatequina (EGCG: 50%) y (-) galato de epicatequina (ECG: 13%) en ratas.

Betucci S. et al.: "The chemopreventive action of catechins in the TRAMP mice model of prostate carcinogénesis is mediated by clusterin overexpression", *European Urology Supplements* vol. 3, n° 2, (2004) p.91, expone diversos efectos de las catequinas de té verde sobre la expresión de clusterina en ratones TRAMP.

Saleem Mohammad et al.: "Tea beverage in chemoprevention of prostate cancer: a mini-review" *Nutrition and Cancer*, vol. 47 (2003), p. 13-23 da a conocer diversos efectos del té verde con respecto al cáncer de próstata, y especialmente la progresión del cáncer de próstata.

La evidencia de la eficacia químicamente preventiva de EGCG y de las catequinas fue demostrada por los autores de la presente invención *in vitro* y en modelos preclínicos animales.

Un estudio realizado en células epiteliales de próstata humana normal (EPIT) en una línea de células epiteliales de próstata humana inmortalizadas por medio de expresión estable de los antígenos SV 40 (PNT1a) y en células de cáncer de próstata aisladas de metástasis óseas (PC-3) demostró la acción selectiva de EGCG dependiente de PNT-1a y PC-3. Un estudio dosis-respuesta realizado por administración de cantidades crecientes de EGCG a las células arriba mencionadas en cultivo demostró que, si bien el crecimiento de EPIT no se modificaba significativamente después de dicho tratamiento, la CI50 de EGCG en PNT1a era mucho menor que en PC-3, demostrando que especialmente las células inmortalizadas (y también, aunque menos evidentemente, las tumorígenas) entraban en un bloque proliferativo y se encaminaban a la muerte celular por apoptosis. Esto sugiere que EGCG y las catequinas son particularmente eficaces en la inhibición de las fases iniciales de la transformación neoplásica.

Para demostrar la validez de esta hipótesis se construyó un modelo preclínico animal de perros o próstata. Uno de los modelos preclínicos más importantes para el estudio del tumor de próstata *in vivo* es el de las ratas transgénicas TRAMP. Estos animales, cuando son homocigóticos recombinantes desarrollan cáncer de próstata con 100% de probabilidad en la etapa adulta. El progreso de la enfermedad recapitula las fases esenciales de la aparición y el progreso de la enfermedad humana. De hecho, el mismo comienza con lesiones del tipo de la Neoplasia Prostática Intraepitelial (PIN) para producir después lesiones histológicas neoplásicas totalmente declaradas que evolucionan luego hacia fenotipos resistentes a los andrógenos y agresivos, originando finalmente lesiones extraprostáticas y metastásicas en la fase terminal. En los laboratorios de los autores de la presente invención se demostró que la administración de una formulación de catequinas extraídas de té verde similar a la formulación característica indicada más adelante en agua de bebida resultaba muy eficaz en la prevención química del cáncer de próstata en las ratas TRAMP. La reducción de la aparición de esta neoplasia en los animales tratados era 80% (sólo 20 casos de neoplasia en 100 contra 100 de 100 en los animales sin tratar). Adicionalmente, los animales en los cuales la prevención química resultaba ineficaz demostraban en cualquier caso la presencia de lesiones tumorales confinadas a la próstata sin lesiones metastásicas.

Los resultados obtenidos por los autores de la presente invención *in vitro* y en el modelo animal en el que no se atestiguó ningún efecto adverso o colateral sugieren que la ingestión de las catequinas podría causar el bloqueo del proceso tumoral y actuar por tanto favorablemente sobre cualquier progreso de la enfermedad *in vivo*. Este requisito previo es el fundamento para intentar una prevención química del cáncer de próstata en el hombre.

Por esta razón, los presentes inventores planificaron y llevaron a cabo un estudio a fin de verificar esta hipótesis. A este objeto, una población de individuos con alto riesgo de desarrollar la enfermedad neoplásica (individuos en los cuales se demostró la lesión pre-neoplásica PIN de grado alto por medio de biopsia de próstata con aguja) se sometió a tratamiento con la formulación abajo indicada con dosis de 600 mg por día versus placebo (dividida en 3 administraciones por día) con una duración total de 1 año con procedimiento de aleatorización doble ciego.

Después del test inicial del PIN de grado alto, los individuos se convocaron cada 3 meses para recibir 9 cajas de cápsulas de una vez, cantidad suficiente para un tratamiento de 3 meses.

Cada individuo estaba incluido ya con anterioridad en un programa de 'espera vigilante' realizado en el departamento de urología aferente. Cada 3 meses, se convocó de nuevo a cada individuo para completar el historial médico, el examen objetivo, y el PSA total y libre. A los 6 y 12 meses del comienzo del estudio, fueron realizados por el departamento de urología el historial médico, examen objetivo, ecografía trans-rectal y mapeado prostático. El número de muestras de biopsia estaba comprendido entre 8 y 18. Durante el periodo de observación, se realizó una

biopsia inicial de próstata con aguja para demostrar el PIN de grado alto, uno a los 6 meses y otro al cabo de 1 año exceptuando aquellos casos en los cuales un aumento brusco del PSA, la alteración de otros parámetros clínicos o el comienzo de sintomatologías características consignadas por los individuos durante el examen objetivo habían sugerido la necesidad razonable de realizar el examen con anterioridad.

- 5 En el caso de diagnóstico de adenocarcinoma, el paciente se retiró del estudio inmediatamente (fallo de la prevención química) y fue remitido a la terapia recomendada sugerida por el urólogo de referencia.

Los individuos fueron seguidos durante un periodo de al menos 1 año y durante el estudio se evaluaron los factores siguientes, a los 6 y 12 meses:

- número de casos de aparición de carcinoma de la próstata en las 2 ramas del estudio (tratada frente a placebo),
- 10 - tiempo medio de aparición del carcinoma comparado con la fecha de diagnóstico del PIN ,
- sintomatología objetiva,
- grado Gleason,
- fase clínica,
- variaciones de las cifras de PSA,
- 15 - volumen de la próstata.

En cada comprobación durante el examen objetivo, el doctor tomaba nota de los posibles efectos colaterales o indeseables que se presentaban durante el tratamiento con catequinas.

- 20 Resultados: en la rama de los individuos tratados, no se comprobó ningún caso de aparición de cáncer de próstata ni después de 6 meses y ni al cabo de 1 año desde el comienzo del tratamiento, mientras que en la rama tratada con placebo la aparición fue respectivamente 30% y 40%, lo cual está muy cerca de los resultados esperados. De hecho, a partir de un examen de la bibliografía científica concerniente a esta materia, se infiere que el riesgo de aparición de cáncer de próstata en los individuos con PIN de grado alto es 50% dentro de 1 año.

- 25 En resumen, la formulación descrita más adelante demostró ser extremadamente eficaz en la prevención de la aparición del cáncer de próstata después de 6 meses y 1 año de tratamiento en pacientes con alto riesgo de aparición (PIN de grado alto).

Por tanto, la presente invención se refiere a una mezcla de polifenoles para uso en la prevención de la aparición de cáncer de próstata en personas diagnosticadas con HG-PIN como se define en las reivindicaciones adjuntas.

- 30 Es muy importante subrayar que la administración sistémica de las dosis arriba mencionadas de la formulación que constituye el objeto esta patente no presentaba riesgo alguno para los pacientes ni efecto alguno colateral o adverso durante todo el periodo de tratamiento, y por consiguiente que los efectos descritos están asociados con la ausencia de riesgo de toxicidad o cualquier otro efecto colateral. El tratamiento era particularmente bien aceptado por los individuos; estos últimos informaron de un estado difundido de bienestar y más vigor.

Descripción del Producto.

- 35 El producto administrado a los individuos humanos voluntarios se presenta como cápsulas o tabletas que contienen 200 mg cada una de la mezcla siguiente de polifenoles (catequinas) extraídas de té verde procedente de las localizaciones óptimas de China o de otras fuentes plantas como se ha descrito arriba, y constituidas como sigue.

Catequinas totales (EC, ECG, EGC, GCG, EGCG) :	no menos de 80
de las cuales EGCG:	no menos de 50
cafeína:	menos de 1,5
ácido gálico, otras catequinas y derivados de la oxidación de catequinas:	menos de 20

Como puede verse, el extracto estaba descafeinado para reducir el contenido total de cafeína a un nivel muy bajo (menor que 1,5%) correspondiente a una cifra menor que la contenida como promedio en media taza de té. Este

tratamiento permite el uso de la preparación sin causar estados de excitación y sin interferir con el sueño en el caso de administración sistémica al anochecer. La dosis recomendada es 3 cápsulas al día durante los 3 primeros meses, lo que corresponde al contenido de polifenoles en 5 a 10 tazas de té verde, tomada posiblemente con las comidas principales. Esta dosis tiene en cuenta el hecho de que en los países orientales (en los cuales la incidencia de patologías prostática, BPH y cáncer de próstata es mucho menor que en los occidentales) el consumo típico es 10 tazas de té verde por día. Además, se ha publicado en la literatura científica que la administración de 1 g por día de catequinas a individuos voluntarios varones y hembras entre 21 y 71 años de edad no tenía efecto pernicioso alguno.

Estas moléculas con tales propiedades interesantes no son típicas únicamente del té verde chino sino que están presentes también en numerosas otras clases de plantas, carne y productos de la vid y productos vegetales típicos del entorno Mediterráneo. Así pues, está claro que cualquier producto que haga uso de una mezcla de estos compuestos o de una o varias moléculas purificadas procedentes de fuentes distintas del té verde chino cae dentro del alcance de protección de esta invención.

Los experimentos realizados por los autores de esta invención sobre un número adecuado de casos clínicos demostraron que la administración diaria de 3 cápsulas que contienen la formulación arriba mencionada sin ayuda de otros remedios o fármacos demostraba ser eficaz al cabo de 6 meses y 1 año de tratamiento en la reducción a cero de la aparición del cáncer próstata en pacientes de riesgo (PIN de grado alto). Adicionalmente, incluso el uso de otras clases de plantas entre las arriba mencionadas como fuentes primarias para la purificación de catequinas está comprendido en esta patente, dado que es sabido que los principios activos que determinan las propiedades beneficiosas del producto descrito son las catequinas (polifenoles) y en particular EGCG, y que estas moléculas son extraíbles - aun cuando en cantidades diferentes y con diferente eficiencia - incluso de otras plantas correlacionadas estrictamente con *Camellia sinensis* en términos taxonómicos e incluso de otras plantas tales como la vid y sus productos y numerosas plantas típicas de la nutrición de tipo Mediterráneo.

Dado que gracias a lo completo de los estudios de los autores de la invención, que abarcan desde los modelos celulares *in vitro* a modelos preclínicos animales hasta el hombre, los autores esta invención han identificado los principios activos eficaces en la prevención química del cáncer de próstata humano, los cuales caen bajo esta reivindicación con independencia del procedimiento de purificación adoptado debido a que es su uso lo que demuestra las propiedades beneficiosas. El derecho de propiedad intelectual de síntesis análogas que exhiben las mismas propiedades beneficiosas en el hombre se reivindica por consiguiente.

REIVINDICACIONES

1. Una mezcla de polifenoles que incluye:
al menos 80% de catequinas totales (-)-epicatequina (EC), (-) 3-galato de epicatequina (ECG), (-) epigallocatequina (EGC), (+) 3-galato de galocatequina (GCG), (-) 3-galato de epigallocatequina (EGCG);
- 5 siendo al menos 50% de dichas catequinas totales EGCG;
siendo el contenido de cafeína en dicha mezcla menor que 1,5%;
siendo el contenido de ácido gálico, otras catequinas y derivados de la oxidación de catequinas en dicha mezcla menor que 20%;
- 10 para uso en la prevención de la aparición de cáncer de próstata en una persona diagnosticada con Neoplasia Intraepitelial de Próstata de grado alto (HG-PIN), para ser administrada en la forma de cápsulas o tabletas tres veces al día en dosis de 200 mg durante un periodo de al menos 6 meses.
2. La mezcla para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha mezcla se extrae de té verde.
3. La mezcla para uso de acuerdo con la reivindicación 1, para ser administrada durante un periodo de al menos 1 año.