

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 005**

51 Int. Cl.:

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 31/352 (2006.01)

A61K 36/185 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.06.2014 PCT/GB2014/051888**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.12.2014 WO14202989**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.06.2014 E 14732613 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.04.2019 EP 3010497**

54 Título: **Una combinación de tetrahidrocannabinol y cannabidiol para uso para aumentar la radiosensibilidad en el tratamiento de un tumor cerebral**

30 Prioridad:

19.06.2013 GB 201310909

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

20.11.2019

73 Titular/es:

**GW RESEARCH LIMITED (100.0%)
Sovereign House, Vision Park, Chivers Way
Histon, Cambridge, CB24 9BZ, GB**

72 Inventor/es:

**LIU, WAI;
SCOTT, KATHERINE;
DALGLEISH, ANGUS;
DUNCAN, MARNIE y
STOTT, COLIN**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 732 005 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

Una combinación de tetrahidrocannabinol y cannabidiol para uso para aumentar la radiosensibilidad en el tratamiento de un tumor cerebral

5 La presente invención se refiere al uso de fitocannabinoides para aumentar la radiosensibilidad en el tratamiento del cáncer. Preferiblemente, los fitocannabinoides utilizados son ya sea tetrahidrocannabinol (THC) y/o cannabidiol (CBD).

Antecedentes de la invención.

10 El cáncer es una enfermedad en la que un grupo de células muestra los rasgos de crecimiento incontrolado. Esto significa que las células crecen y se dividen más allá de los niveles de los límites normales. Las células también son capaces de invadir y destruir los tejidos circundantes. Además, las células cancerosas a veces también hacen metástasis, lo que significa que se diseminan a otras ubicaciones del cuerpo a través de la sangre o la linfa.

La mayoría de los cánceres son causados por anomalías en el material genético de las células. Estas anomalías se pueden deber a los efectos de los carcinógenos. Otras anomalías genéticas que promueven el cáncer pueden ser adquiridas aleatoriamente a través de errores en la replicación del ADN, o se heredan y, de este modo, están presentes en todas las células desde el nacimiento.

15 Las anomalías genéticas encontradas en el cáncer afectan por lo general dos clases generales de genes. Los oncogenes que promueven el cáncer a menudo se activan en las células cancerosas, lo que les confiere nuevas propiedades, tales como el crecimiento y la división hiperactivos, la protección contra la muerte celular programada, la pérdida del respeto por los límites tisulares normales y la capacidad de establecerse en diversos entornos tisulares.

20 Los genes supresores de tumores a menudo se inactivan en las células cancerosas, lo que resulta en la pérdida de funciones normales en esas células, tales como la replicación precisa del ADN, el control sobre el ciclo celular, la orientación y la adhesión dentro de los tejidos y la interacción con las células protectoras del sistema inmunitario.

Hay muchos tipos diferentes de cáncer y el cáncer generalmente se clasifica según el tipo de tejido del que se originó.

25 El cáncer suele tratarse con uno o más de los siguientes: cirugía, quimioterapia, radioterapia, inmunoterapia y terapia con anticuerpos monoclonales. El tipo de terapia depende de la ubicación y el grado del tumor y la etapa de la enfermedad.

El objetivo del tratamiento es la eliminación completa del cáncer sin dañar el resto del cuerpo. Algunas veces, esto puede lograrse mediante cirugía, pero la propensión de los cánceres a invadir el tejido adyacente o a propagarse a sitios distantes por metástasis microscópicas a menudo limita su efectividad. La efectividad de la quimioterapia a menudo está limitada por la toxicidad para otros tejidos del cuerpo. La radiación también puede causar daño al tejido normal.

30 Se sabe que los cánceres afectan muchas áreas del cuerpo con los tipos más comunes de cáncer, entre los que se incluyen: el cáncer de la vía biliar, el cáncer de vejiga, el cáncer de hueso, el cáncer de intestino (incluido el cáncer de colon y el cáncer del recto), cáncer de cerebro, cáncer de mama, cáncer del sistema neuroendocrino (comúnmente conocido como carcinóide), cáncer de cuello uterino, cáncer de ojo, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello (este grupo incluye carcinomas que comienzan en las células que forman el revestimiento de la boca, nariz, garganta, oreja o la capa superficial que cubre la lengua), sarcoma de Kaposi, cáncer de riñón, cáncer de laringe, leucemia, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, cáncer de los ganglios linfáticos, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, melanoma, mesotelioma, mieloma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de pene, cáncer de próstata, cáncer de piel, sarcomas de tejidos blandos, cáncer de la médula espinal, cáncer del estómago, cáncer testicular, cáncer de tiroides, cáncer de vagina, cáncer de vulva y cáncer de útero.

40 Un tumor que se desarrolla en el cerebro puede destruir o dañar las células del cerebro produciendo inflamación, comprimiendo otras partes del cerebro, induciendo un edema cerebral (hinchazón del cerebro) y puede causar aumentos en la presión intracraneal (presión dentro del cráneo).

45 Cada año, aproximadamente 4300 personas en el Reino Unido son diagnosticadas con un tumor cerebral. Un tumor cerebral primario es una masa creada por el crecimiento o la proliferación descontrolada de células en el cerebro. Los tumores cerebrales primarios malignos tienen más probabilidades de causar problemas al propagarse al tejido cerebral normal que los rodea y causar presión y daños en las áreas circundantes del cerebro. Estos tumores rara vez se extienden fuera del cerebro a otras partes del cuerpo. Sin embargo, los tumores cerebrales secundarios se producen cuando las células cancerosas de otras partes del cuerpo, tales como el pulmón o la mama, se diseminan al cerebro.

50 La cirugía es la opción de tratamiento de elección para muchos tumores cerebrales. Algunos pueden ser extirpados por completo, pero aquellos que son profundos o que se infiltran en el tejido cerebral pueden ser reducidos en vez de eliminarse.

Se puede recomendar la radioterapia y/o la quimioterapia dependiendo del tipo de tumor implicado.

Los tumores de células de glioma a menudo pueden ser letales. El crecimiento tumoral infiltrativo difuso característico de los gliomas a menudo hace imposible la extirpación quirúrgica de los mismos y esto complica profundamente el manejo clínico de estos pacientes.

5 El glioblastoma multiforme (GBM) es el tipo más común y agresivo de tumor cerebral primario y representa el 52% de todos los casos de tumor cerebral primario y el 20% de todos los tumores intracraneales.

Se están investigando diferentes enfoques para mejorar la tasa de mortalidad de los pacientes diagnosticados con un glioma. Estas incluyen terapias dirigidas a las células del glioma pero que no dañan las células normales, métodos que limitan la propagación de las células cancerosas y tratamientos que bloquean las moléculas que sustentan la vida de los tumores.

10 Un área de investigación de este tipo implica el uso de fitocannabinoides como agentes antitumorales.

Los fitocannabinoides son los constituyentes activos de las plantas de cannabis y se ha encontrado que demuestran numerosas propiedades farmacológicas.

15 Por ejemplo, el documento EP1177790 (Guzman et al.) describe el tratamiento de tumores cerebrales mediante la administración de un cannabinoide natural o sintético, específicamente THC. Se reivindica que la activación de receptores específicos conduce a la muerte selectiva de las células transformadas.

Recientemente, se ha demostrado que el fitocannabinoide CBD posee propiedades antitumorales (Massi et al. 2004). El trabajo descrito en este artículo describe los efectos antiproliferativos tanto in vitro usando líneas celulares de glioma humano U87 y U373 como in vivo usando células de glioma humano U87 implantadas subcutáneamente en ratones desnudos.

20 Los gliomas malignos son tumores altamente infiltrativos y proliferativos, que siguen un patrón característico de crecimiento. Las células de glioma invaden las estructuras cerebrales normales adyacentes y rodean los grandes vasos sanguíneos.

25 Además, la patente anterior EP1802274 del solicitante describe el uso del cannabinoide CBD para impedir el progreso de las células cancerosas que migran desde su ubicación del tumor primario a un sitio secundario. El documento US203/0166727 describe el uso de cannabidiol y otros compuestos tales como el ácido cannabidiol-DMH-7-oico para mejorar el tratamiento anticancerígeno con irradiación gamma.

Además, las solicitudes de patente WO 2009/147439 y WO 2009/147438 describen respectivamente el uso de una combinación de los fitocannabinoides THC y CBD y la combinación de los fitocannabinoides THC y CBD con agentes quimioterapéuticos en el tratamiento del glioma.

30 Breve resumen de la divulgación.

La presente invención proporciona una combinación de tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) en una proporción de aproximadamente 1:1 para uso en la radiosensibilidad creciente en el tratamiento de un tumor cerebral, en la que el THC y el CBD se proporcionan antes de irradiación de manera que aumentan la radiosensibilidad de las células tumorales en el tumor cerebral.

35 Preferiblemente, el tumor cerebral es un tumor de glioma. Más preferiblemente, el tumor cerebral es un glioblastoma multiforme (GBM).

Preferiblemente, los fitocannabinoides están en forma de un extracto o sustancia farmacéutica botánica. Alternativamente, los fitocannabinoides están en forma aislada o pura.

La proporción de THC: CBD es sustancialmente de 1:1.

40 Esta divulgación se refiere al uso de una combinación de los fitocannabinoides (tetrahidrocannabinol) THC y (cannabidiol) CBD para aumentar la radiosensibilidad en el tratamiento de un tumor cerebral.

En esta especificación, los siguientes términos se usan y se pretende que tengan los siguientes significados/definiciones: Los "cannabinoides" son un grupo de compuestos que incluyen los endocannabinoides, los fitocannabinoides y aquellos que no son endocannabinoides ni fitocannabinoides, en lo sucesivo "sintocannabinoides".

45 Los "endocannabinoides" son cannabinoides endógenos, que son ligandos de alta afinidad de los receptores CB1 y CB2.

Los "fitocannabinoides" son cannabinoides que se originan en la naturaleza y se pueden encontrar en la planta de cannabis. Los fitocannabinoides pueden estar presentes en un extracto que incluye una sustancia farmacológica botánica, aislada o reproducida sintéticamente.

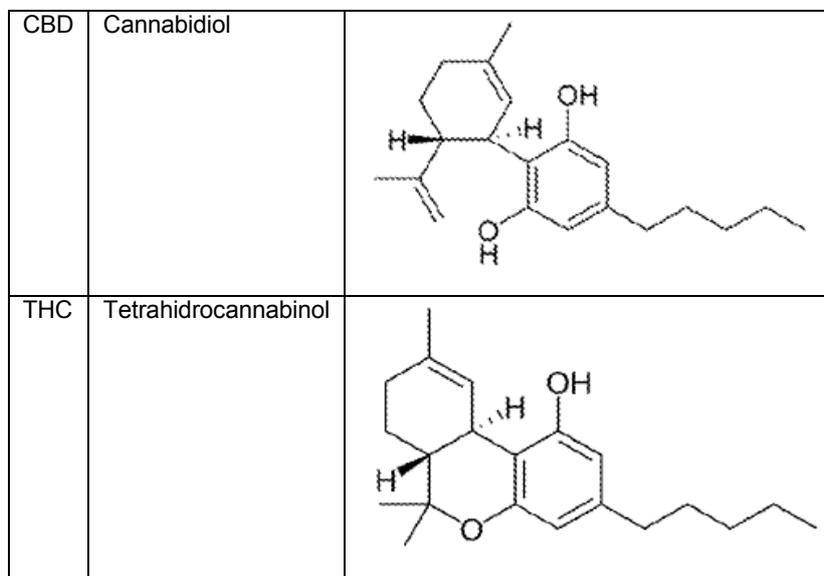
Los "sintocannabinoides" son aquellos compuestos capaces de interactuar con los receptores de cannabinoides (CB1 y/o CB2) pero no se encuentran de manera endógena o en la planta de cannabis. Los ejemplos incluyen WIN 55212 y SR141716 (rimonabant).

5 Un "fitocannabinoide aislado" es uno que se ha extraído de la planta de cannabis y se ha purificado hasta tal punto que se han eliminado sustancialmente todos los componentes adicionales, tales como los cannabinoides secundarios y menores y la fracción no cannabinoide.

Un "cannabinoide sintético" es uno que se ha producido mediante síntesis química; este término incluye la modificación de un fitocannabinoide aislado, formando, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Una "sustancia farmacológica botánica" o "BDS" se define en the Guidance for Industry Botanical Drug Products Guidance, June 2004, US Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Centre for Drug Evaluation and Research como: "Un fármaco derivado de una o más plantas, algas u hongos microscópicos. Se prepara a partir de materias primas botánicas mediante uno o más de los siguientes procesos: pulverización, decocción, expresión, extracción acuosa, extracción etanólica u otros procesos similares". Una sustancia farmacológica botánica no incluye una sustancia altamente purificada o modificada químicamente derivada de fuentes naturales. De este modo, en el caso del cannabis, los BDS derivados de las plantas de cannabis no incluyen cannabinoides de grado farmacopea altamente purificados

La estructura de los fitocannabinoides, CBD y THC es como se muestra a continuación:



20 El término "aumento de la radiosensibilidad" se refiere a la capacidad de los fitocannabinoides para mejorar la actividad de la irradiación proporcionada durante el tratamiento para el cáncer.

Breve descripción de los dibujos

Las realizaciones de la invención se describen adicionalmente en lo que sigue con referencia a los dibujos adjuntos, en los que:

La figura 1 muestra la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma;

25 La figura 2, que muestra el efecto del CDB sobre la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma;

La figura 3, que muestra el efecto del THC en la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma; y

La figura 4 muestra el efecto de la combinación de THC y CBD en la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma.

Descripción detallada

30 El siguiente ejemplo describe el efecto del uso de fitocannabinoides para aumentar la radiosensibilidad en células de glioma.

Ejemplo 1: combinación de fitocannabinoides con radiación

Materiales y métodos

Radiosensibilidad de líneas celulares de glioma.

Se llevó a cabo un experimento de respuesta a la dosis inicial para determinar la radiosensibilidad de las líneas celulares individuales.

5 Las líneas celulares de glioma humano T98G y U87MG se obtuvieron de ATCC, y eran líneas derivadas de pacientes con un tumor glioblastoma multiforme y un astrocitoma de glioblastoma, respectivamente.

La línea celular de glioma de ratón GL261, que es singénica para el ratón C57BL/6, se adquirió del NCI.

Las células se expusieron a dosis crecientes de irradiación y luego se realizaron ensayos de supervivencia de células clonogénicas. De esta manera se evaluó la capacidad de las células para sobrevivir a un ataque de irradiación y continuar y dividirse indefinidamente formando una colonia y se usó como nuestra lectura de radiosensibilidad.

10 Las células se sembraron inicialmente en matraces y se dejaron adherir durante la noche. Al día siguiente, se irradiaron con dosis crecientes de radiación (0, 1, 2, 5, 10 y 20 Gy) usando Cs¹³⁷ como fuente de radiación. Luego las células se recogieron, se contaron y se sembraron nuevamente a densidades crecientes en placas de 6 pocillos, ajustando la densidad de manera apropiada para la dosis de radiación, y luego se incubaron durante aproximadamente 14 días. En este momento, las placas se lavaron y se fijaron en etanol al 70%, y las colonias se tiñeron con azul de metileno al 5%.

15 Las colonias que consistían en > 50 células se contaron y se calcularon como una proporción del número de células sembradas inicialmente (fracción sobreviviente). Luego este valor se usa para calcular la radiosensibilidad de la línea celular. Los datos representan la media ± SD de tres experimentos independientes.

Efecto del CBD sobre la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma

20 Las células se trataron con CBD puro durante 24 h antes de la irradiación para determinar si los fitocannabinoides individuales eran capaces de cebar las células para la irradiación.

25 Las células se sembraron inicialmente en matraces y se dejaron adherir durante la noche. Al día siguiente, se trataron con concentraciones crecientes de CBD puro y luego se dejaron durante 24 horas. Las células se irradiaron luego con dosis crecientes de radiación (0, 1, 2 y 5 Gy) usando Cs¹³⁷ como fuente de radiación. Luego las células se recogieron, se contaron y se sembraron nuevamente a densidades crecientes en placas de 6 pocillos, ajustando la densidad de manera apropiada para la dosis de radiación, y luego se incubaron durante aproximadamente 14 días. En este momento, las placas se lavaron y se fijaron en etanol al 70%, y las colonias se tiñeron con azul de metileno al 5%. Se contaron las colonias que consistían en > 50 células y se calculó la fracción sobreviviente. Los datos representan la media de tres experimentos independientes, excepto GL261 que es solo un conjunto de datos.

Efecto del THC en la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma

30 Las células se trataron con THC puro durante 24 h antes de la irradiación para determinar si los fitocannabinoides individuales eran capaces de cebar las células para la irradiación.

35 Las células se sembraron inicialmente en matraces y se dejaron adherir durante la noche. Al día siguiente, se trataron con concentraciones crecientes de THC puro y luego se dejaron durante 24 horas. Las células se irradiaron luego con dosis crecientes de radiación (0, 1, 2 y 5 Gy) usando Cs¹³⁷ como fuente de radiación. Luego las células se recogieron, se contaron y se sembraron nuevamente a densidades crecientes en placas de 6 pocillos, ajustando la densidad de manera apropiada para la dosis de radiación, y luego se incubaron durante aproximadamente 14 días. En este momento, las placas se lavaron y se fijaron en etanol al 70%, y las colonias se tiñeron con azul de metileno al 5%. Se contaron las colonias que consistían en > 50 células y se calculó la fracción sobreviviente. Los datos representan la media de tres experimentos independientes.

40 Efecto de la combinación de THC y CBD en la radiosensibilidad de las líneas celulares de glioma

Luego se evaluó el impacto de usar una combinación de THC puro y CBD puro en la radiosensibilidad de las líneas celulares. Se evaluó el efecto de los fármacos antes de la exposición a la irradiación; por lo tanto, los fitocannabinoides THC y CBD se combinaron en una proporción de 1:1 y se aplicaron a las células 24 h antes de la irradiación.

45 Las células se sembraron inicialmente en matraces y se dejaron adherir durante la noche. Al día siguiente, se trataron incrementando el THC puro, el CBD puro o una combinación equimolar 1:1 de ambos y luego se dejaron durante 24 horas. Luego las células se irradiaron luego con dosis crecientes de radiación (0, 1, 2 y 5 Gy) usando Cs¹³⁷ como fuente de radiación. Luego las células se recogieron, se contaron y se sembraron nuevamente a densidades crecientes en placas de 6 pocillos, ajustando la densidad de manera apropiada para la dosis de radiación, y luego se incubaron durante aproximadamente 14 días. En este momento, las placas se lavaron y se fijaron en etanol al 70%, y las colonias se tiñeron con azul de metileno al 5%. Se contaron las colonias que consistían en > 50 células y se calculó la fracción sobreviviente. Los datos de un solo conjunto de datos.

50

Todos los fitocannabinoides informados en este documento se usaron a concentraciones molares, determinadas por las masas de las sustancias recibidas.

Resultados

La figura 1 muestra que la línea celular GL261 es la más radiosensible y que las líneas celulares de glioma humano eran igualmente sensibles.

5 La figura 2 muestra el impacto del CBD en la radiosensibilidad, mientras que la figura 3 muestra los datos del impacto del THC en la radiosensibilidad. Los resultados sugirieron que los fitocannabinoides, cuando se usaron solos, no parecieron alterar la radiosensibilidad de las líneas celulares, ya que no existe un efecto dependiente de la dosis sobre la fracción sobreviviente.

La figura 4 muestra que una combinación de THC y CBD a una concentración final de 20 μ M puede mejorar la actividad de la irradiación, en comparación con el uso de los agentes solos.

10 Conclusión

La combinación de fitocannabinoides THC y CBD potencia el efecto de la radiación y, como tal, es una opción de tratamiento valiosa en esta enfermedad difícil de tratar.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una combinación de tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) en una proporción de aproximadamente 1:1 para su uso en la radiosensibilidad creciente en el tratamiento de un tumor cerebral, en la que el THC y el CBD se proporcionan antes de la irradiación, de manera que aumentan la radiosensibilidad de las células tumorales en el tumor cerebral.
2. Una combinación de THC y CBD para uso según la reivindicación 1, en la que el tumor cerebral es un tumor de glioma.
3. Una combinación de THC y CBD para uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en la que el tumor cerebral es un glioblastoma multiforme (GBM).
- 10 4. Una combinación de THC y CBD para uso según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en la que el THC y el CBD están en forma de un extracto o sustancia farmacológica botánica.
5. Una combinación de THC y CBD para su uso según las reivindicaciones 1 a 3, en la que los fitocannabinoides están en forma aislada o pura.

Radiosensibilidad de líneas celulares de glioma

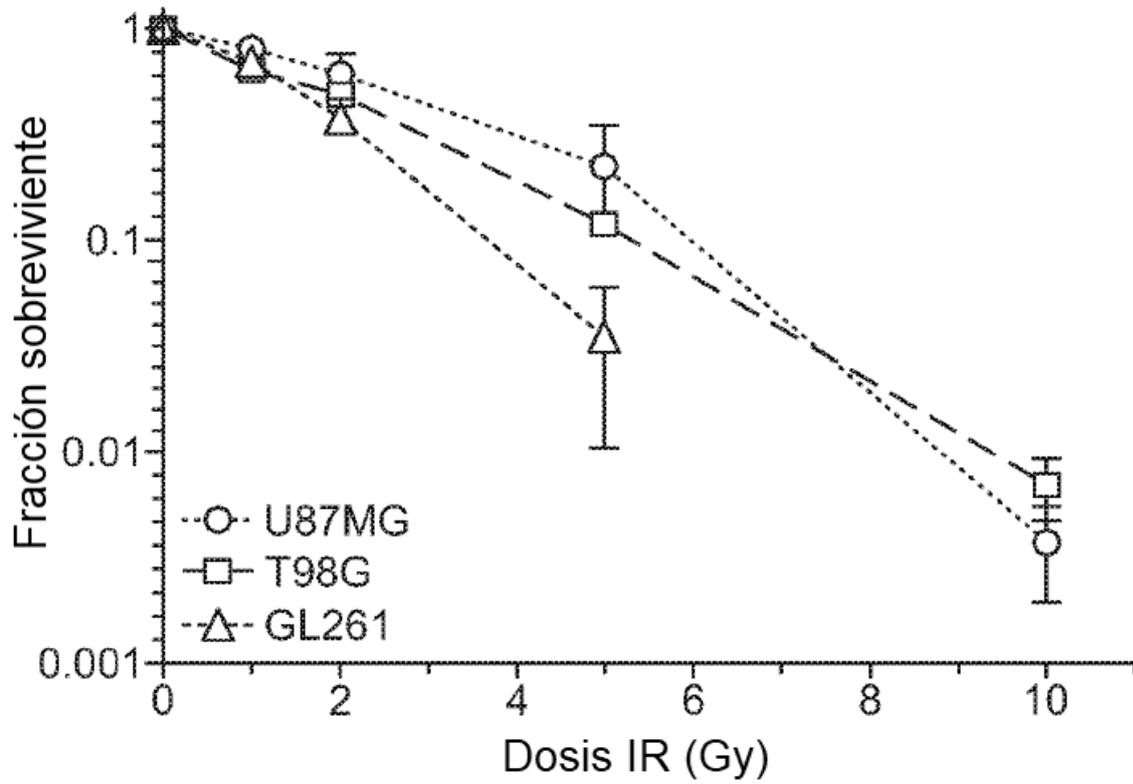


Fig. 1

Efecto de CBD sobre la radiosensibilidad de líneas celulares del glioma

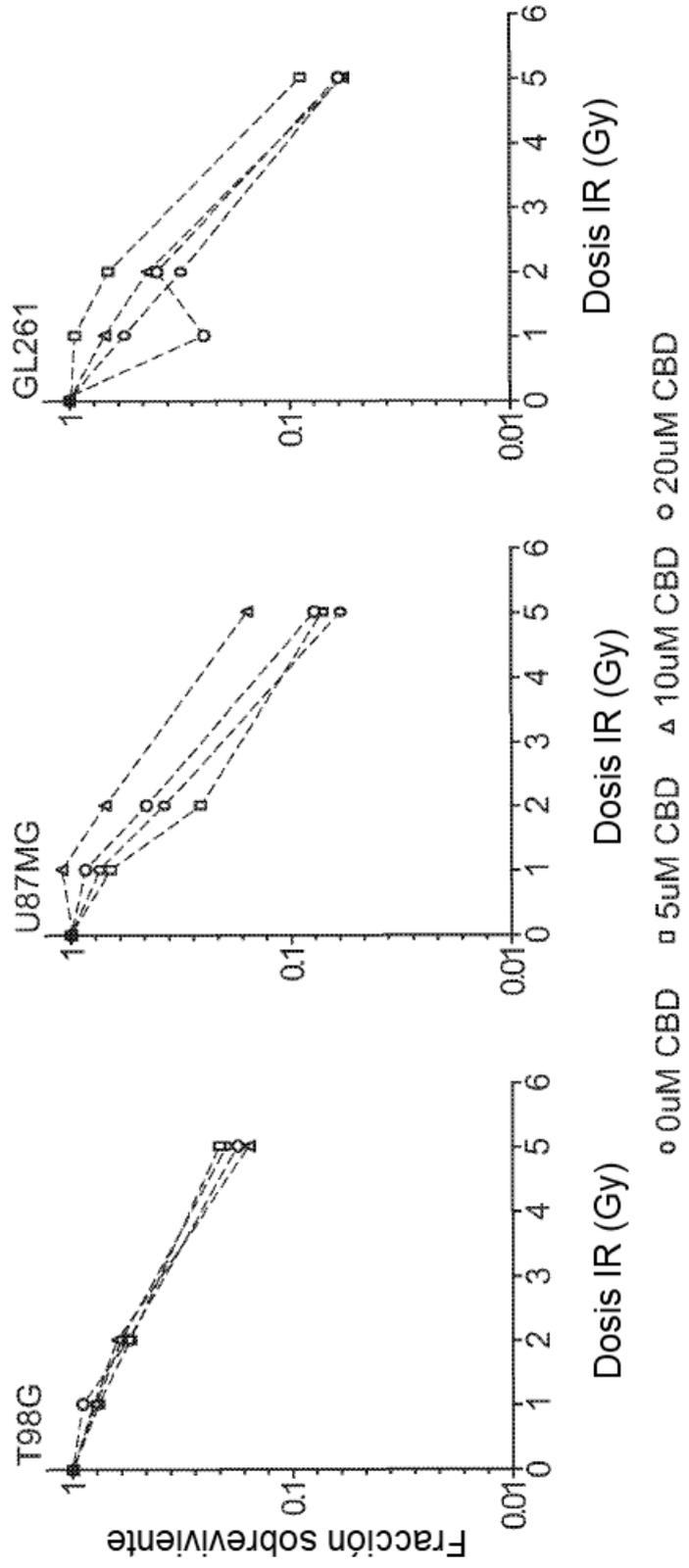


Fig. 2

Efecto de THC sobre la radiosensibilidad de líneas celulares del glioma

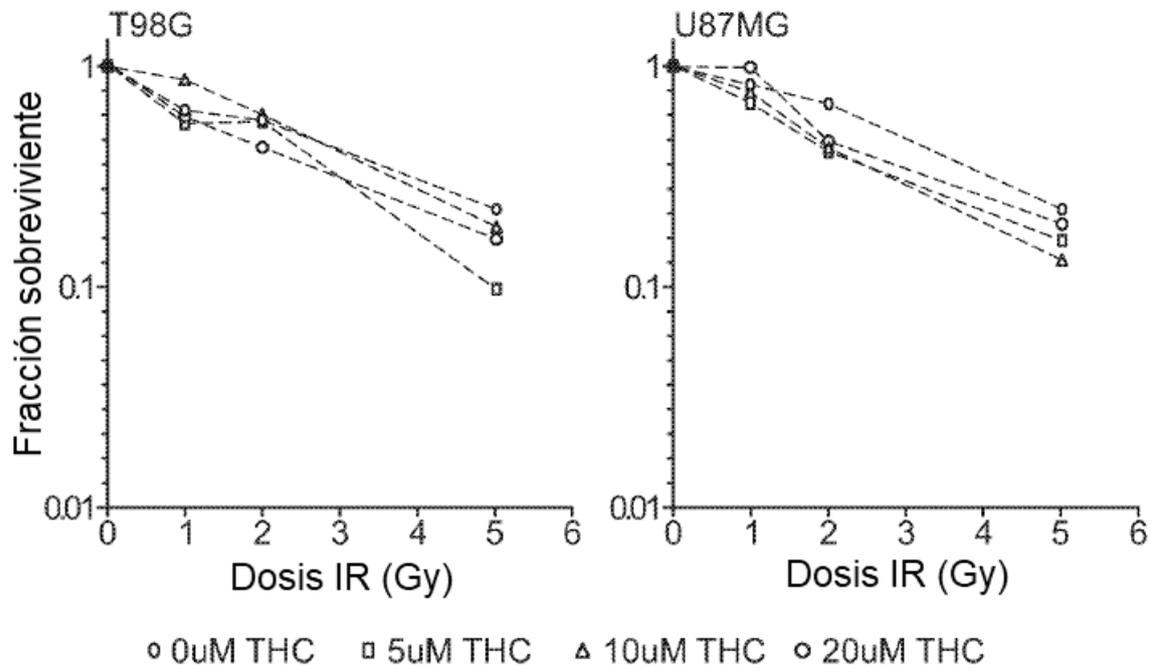


Fig. 3

Efecto de combinación de THC y CBD sobre la radiosensibilidad de líneas celulares del glioma

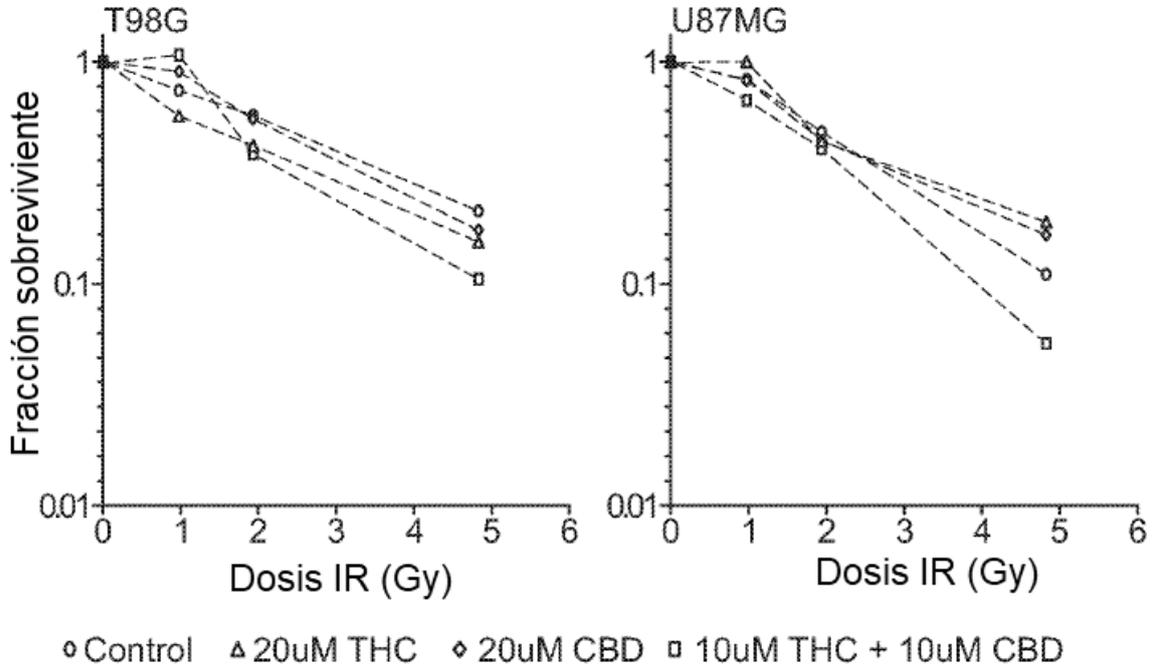


Fig. 4