

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 757 580**

51 Int. Cl.:

**A61K 36/9066** (2006.01)

**A61K 31/12** (2006.01)

**A61K 31/685** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2007 PCT/EP2007/001487**

87 Fecha y número de publicación internacional: **13.09.2007 WO07101551**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2007 E 07703532 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 1991244**

54 Título: **Complejos de fosfolípidos de curcumina que tienen una biodisponibilidad mejorada**

30 Prioridad:

**09.03.2006 EP 06004820**

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

**29.04.2020**

73 Titular/es:

**INDENA S.P.A. (100.0%)  
VIALE ORTLES, 12  
20139 MILANO, IT**

72 Inventor/es:

**GIORI, ANDREA y  
FRANCESCHI, FEDERICO**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 757 580 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

Complejos de fosfolípidos de curcumina que tienen una biodisponibilidad mejorada

La presente invención se refiere a nuevos complejos de fosfolípidos de curcumina o extractos que los contienen que tienen una biodisponibilidad mejorada.

5 **Antecedentes tecnológicos**

La curcumina, [1,7-bis(4-hidroxil-3-metoxifenil)-1,6-heptadien-3,5-diona], es el constituyente principal de la especia cúrcuma extraída de la raíz de *Curcuma longa* Linn. La curcumina es un polifenol que tiene un poderoso antioxidante e inhibe la expresión de la enzima ciclooxigenasa 2 (Cox 2) al menos en parte mediante interferencia con la activación del factor de transcripción NFκB [2, 14]. *In vitro*, la curcumina inhibe el crecimiento de células cancerosas con un valor IC<sub>50</sub> de 20-75 μM [6, 16]. En modelos de roedores, se ha demostrado que la curcumina previene el cáncer en el colon, la piel, el estómago, el duodeno, el paladar blando, la lengua, las glándulas sebáceas y los senos [9, 10, 15]. Por lo tanto, la curcumina podría considerarse un prometedor agente quimiopreventivo eficaz y seguro contra el cáncer [18]. De hecho, estudios piloto clínicos han asociado el consumo de curcumina con la regresión de lesiones premalignas de vejiga, paladar blando, estómago, cuello uterino y piel [1, 11].

15 Sin embargo, las concentraciones de curcumina conseguidas en plasma y tejidos objetivo son bajas, probablemente debido, al menos en parte, a su extenso metabolismo por conjugación (glucuronidación y sulfatación) y a sus vías de reducción [4, 5, 7, 8].

20 Los estudios piloto preclínicos y clínicos sugieren que, en un ensayo de fase I, las concentraciones plasmáticas y urinarias de curcumina en pacientes que habían ingerido 3.600 mg de curcumina por vía oral, fueron de 11,1 nmol/l y 1,3 μmol/l, respectivamente [17]. En otro estudio, las concentraciones plasmáticas máximas 1-2 h después de la administración oral alcanzaron 0,41-1,75 μM en pacientes que recibieron de 4 a 8 g de curcumina [1]. No es práctico ni deseable aumentar la dosis oral de curcumina por encima de la ya investigada.

Por lo tanto, es altamente deseable encontrar nuevos derivados de curcumina que tengan una biodisponibilidad mejorada.

25 Se han divulgado compuestos complejos de extractos vegetales o componentes purificados de los mismos con fosfolípidos naturales, sintéticos o semisintéticos, por ejemplo, en los documentos EP 209 038, EP 275 005, EP 283 713, EP 1 035 859 y EP 1 140 115. Dichos complejos mejoran la biodisponibilidad plasmática del extracto o componente purificado, gracias a su lipofilia. El documento EP 1 140 115 menciona genéricamente el etanol entre los diversos disolventes que pueden usarse para la preparación de dichos complejos, pero no proporciona ejemplos de preparación que hagan uso de etanol como disolvente. Además, los complejos divulgados son complejos de fosfolípidos de 30 proantocianidina A2, que tienen estructuras químicas bastante diferentes con respecto a los complejos de fosfolípidos de curcumina de la presente invención.

**Divulgación de la invención**

Ahora, se ha encontrado que los complejos de fosfolípidos de curcumina, que proporcionan niveles sistémicos más altos de agente original que la curcumina no formulada, pueden prepararse en disolventes próticos.

35 Por lo tanto, la presente invención se refiere a nuevos complejos de fosfolípidos de curcumina que tienen una biodisponibilidad mejorada.

Según la invención, pueden usarse fosfolípidos de origen vegetal o sintético, particularmente preferentes son los fosfolípidos de soja, tales como fosfatidil colina, fosfatidil serina, fosfatidil etanolamina.

40 Según la invención, los complejos se preparan añadiendo el fosfolípido a curcumina disuelta en un disolvente prótico, más particularmente añadiendo el fosfolípido a la solución de etanol del extracto hidroalcohólico de rizomas de cúrcuma, bajo reflujo y con agitación. La suspensión resultante se concentra bajo presión reducida hasta un residuo que se seca en un horno. La proporción de fosfolípidos a curcumina está en el intervalo de 10 a 1 p/p, siendo una relación molar más preferente 5:1 p/p.

45 La presente invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que contienen como principio activo uno de los complejos de fosfolípidos de curcumina según la invención, en una mezcla con un vehículo farmacéutico adecuado.

La presente invención se refiere además al uso de los complejos de fosfolípidos de curcumina de la invención para la preparación de medicamentos que tienen acción quimiopreventiva.

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención.

**Ejemplo 1 - Preparación de extracto con bajo contenido de curcumina**

Se extrajeron rizomas de cúrcuma secos molidos (1.000 g) con una mezcla de etanol y agua 9:1 (6.680 ml). La solución hidroalcohólica resultante se concentró bajo presión reducida y el secado se completó en un horno a 60°C bajo vacío para producir 69,3 g de una pasta de color naranja que tenía un contenido de curcumina del 17,4% p/p y un contenido total de curcuminoides del 29,2% p/p.

**Ejemplo 2 - Preparación de extracto con alto contenido de curcumina**

Los rizomas de cúrcuma secos molidos (1.000 g) se desgrasaron con hexano (2.500 ml) antes de extraerse con una mezcla 95:5 de etanol-agua (7.500 ml). A continuación, los curcuminoides se cristalizaron añadiendo lentamente hexano (500 ml) a la solución hidroalcohólica y permitiendo que la mezcla resultante reposara durante 24 horas. Un sólido microcristalino de color naranja se filtró y se secó a 60°C en vacío para producir 36,7 g de extracto que tenía un contenido de curcumina del 71,74% y un contenido total de curcuminoides del 93,8% p/p.

**Ejemplo 3 - Preparación del complejo a partir de un extracto de bajo contenido**

Se disolvieron 20 g del producto del Ejemplo 1 en etanol (400 ml) y la solución se calentó a reflujo. Se añadieron lentamente 30 g de fosfolípidos de soja en porciones, bajo reflujo y con agitación. La suspensión resultante se calentó bajo reflujo con agitación durante 1 hora, a continuación, se concentró en caliente bajo presión reducida y finalmente se secó en un horno. Se obtuvieron 46,7 g de un producto ceroso de color naranja, que tenía un contenido de curcumina del 7,54% y un contenido total de curcuminoides del 12,1% p/p.

Aunque el extracto de partida es insoluble en disolvente clorado, el producto resultante es soluble en  $\text{CHCl}_3$  en una concentración del 4% p/v, confirmando de esta manera la complejación del extracto por el fosfolípido y la formación de un complejo molecular.

El espectro  $^1\text{H-NMR}$  del complejo en  $\text{CDCl}_3$  muestra las principales señales de los fosfolípidos, típicos de los fosfolípidos complejados. Por otra parte, el espectro  $^1\text{H-NMR}$  del complejo en  $\text{DMSO-d}_6$ , que es un disolvente que previene la agregación del complejo, muestra las señales del extracto de partida libre, así como las de los fosfolípidos.

En los espectros  $^{31}\text{P}$  RMN, la señal de  $^{31}\text{P}$  en  $\text{CDCl}_3$  está a 1,06 ppm y tiene una anchura de 35,3 Hz, lo cual es típico de los fosfolípidos complejados. El complejo se destruye en  $\text{DMSO-d}_6$  tal como confirma la señal de  $^{31}\text{P}$  en 0,12 ppm con una anchura de 3,80 Hz típica del fosfolípido libre.

**Ejemplo 4 - Preparación del complejo a partir de un extracto de alto contenido**

Se disolvieron 20 g en extracto de rizomas de cúrcuma que tenían un contenido total de curcuminoides del 93,8% p/p en etanol (800 ml) y la solución se calentó bajo reflujo. Se añadieron lentamente 80 g de fosfolípidos de soja en porciones, bajo reflujo y con agitación. La suspensión resultante se calentó bajo reflujo con agitación durante 1 hora, a continuación, se concentró en caliente a presión reducida y finalmente se secó en un horno. Se obtuvieron 97,6 g de un producto ceroso de color naranja, que tenía un contenido de curcumina del 13,2% y un contenido total de curcuminoides del 16,9% p/p.

La solubilidad del producto en  $\text{CHCl}_3$  a una concentración del 4% p/v y los espectros de RMN son los mismos que los del Ejemplo 3, confirmando la formación del complejo.

**35 Sección experimental**

Se realizaron ensayos para comparar la biodisponibilidad de la curcumina proporcionada por los complejos de fosfolípidos de la invención y por el extracto que contenía curcumina no complejada.

**Materiales y procedimientos**

40 Ratas Wistar macho (250 g) fueron sometidas a ayuno durante la noche y se les proporcionó por sonda oral extracto obtenido mediante el Ejemplo 2 o complejo obtenido mediante el Ejemplo 4 a una dosis de 340 mg/Kg en términos de curcumina.

Las ratas fueron sacrificadas a los 15, 30, 60 y 120 minutos. Se recogió sangre completa en tubos heparinizados, se centrifugó inmediatamente a 7.000xg durante 15 minutos, a continuación, se decantó el plasma y se almacenó a -80°C hasta el análisis.

45 La presencia de curcumina y metabolitos se verificó mediante cromatografía líquida de electronebulización de iones negativos/espectrometría de masas en tándem, tal como se ha descrito anteriormente (4,5,7).

**Análisis farmacocinético**

Los niveles plasmáticos máximos y el área bajo los valores de la curva temporal de concentración plasmática (AUC) para la curcumina original después de la administración de curcumina complejada con fosfolípidos, tal como se describe en el Ejemplo 4, fueron cinco veces más altos que los valores equivalentes observados después del tratamiento con el extracto del Ejemplo 2 (curcumina no complejada) (Tabla 1).

Tabla 1. Valores estimados de C<sub>max</sub>, T<sub>max</sub> y AUC en plasma para la curcumina no formulada y formulada.

	C <sub>max</sub> (nM)	T <sub>max</sub> (min)	AUC (µg. min/ml)*
<u>Extracto del ejemplo 2</u>			
Curcumina	6,5 ± 4,5	30	4,8
Glucurónido de curcumina	225 ± 0,6	30	200,7
Sulfato de curcumina	7,0 ± 11,5	60	15,5
<u>Complejo del Ejemplo 4</u>			
Curcumina	33,4 ± 7,1	15	26,7
Glucurónido de curcumina	4.420 ± 292	30	4.764,7
Sulfato de curcumina	21,2 ± 3,9	60	24,8

\* El AUC se calculó usando WinNonLin y empleando un modelo no compartimental.

5

## Resultados

Los resultados muestran que los complejos de fosfolípidos de curcumina de la invención proporcionan niveles sistémicos más altos de agente original que la curcumina no complejada.

La biodisponibilidad mejorada del complejo de fosfolípidos de curcumina aumenta el alcance potencial de las aplicaciones médicas para la curcumina como un agente quimiopreventivo.

## Referencias

1. Cheng AL, et al., *Anticancer Res* 21: 2895-2900.
2. Duvoix A, et al., *Cancer Lett* 223: 181-190.
3. Fagerholm U, et al., *J Pharm Pharmacol* 50: 467-443.
4. Garcea G, et al., *Br J Cancer* 90: 1011-1015.
5. Garcea G, et al., *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 14: 120-125.
6. Goel A, et al., *Cancer Letters* 172: 111-118.
7. Ireson C, et al., *Cancer Res* 61: 1058-1064.
8. Ireson C, et al., *Cancer Epidemiol. Biomarkers & Prev* 11: 97-104.
9. Kawamori T, et al., *Cancer Res* 59: 597-601.
10. Kelloff GJ, et al., *J Cell Biochem* 63: 54-71.
11. Kuttan R, et al., *Tumors* 3: 29-31.
12. Li, L., et al., *Cancer* 104: 1322-1331.
13. Mourao SC, et al., *Int J Pharmaceut* 295: 157-162.
14. Plummer SM., et al., *Oncogene* 18: 6013-6020.

25

15. Rao CV, et al., *Cancer Res* 55: 259-266.
16. Shao Z-M, et al., *Int J Cancer* 98: 234-240.
17. Sharma RA, et al., *Clin Cancer Res* 10: 6847-6854.
18. Surh YJ *Nature Rev Cancer* 3: 768-780.
- 5 19. Workman P, et al., *Brit J Cancer* 77: 1-10.

**REIVINDICACIONES**

1. Complejos de fosfolípidos de curcumina o extractos que los contienen, obtenibles mediante un procedimiento que consiste en las etapas en las que un extracto hidroalcohólico de rizomas de cúrcuma se hace reaccionar con fosfolípidos en etanol y a continuación los complejos se aíslan mediante concentración y secado.
- 5 2. Los complejos de la reivindicación 1, en los que los fosfolípidos son fosfolípidos de soja.
3. Los complejos de la reivindicación 2, en los que los fosfolípidos se seleccionan de entre fosfatidil colina, fosfatidil serina, fosfatidil etanolamina.
4. Un procedimiento de preparación de complejos de fosfolípidos de curcumina o extractos que los contienen, que consiste en las etapas en las que un extracto hidroalcohólico de rizomas de cúrcuma se hace reaccionar con fosfolípidos en etanol, y a continuación los complejos se aíslan mediante concentración y secado.
- 10 5. Composiciones farmacéuticas que contienen como principio activo un complejo según las reivindicaciones 1-3, en una mezcla con un vehículo farmacéutico adecuado.
6. Complejos de fosfolípidos de curcumina o extractos que los contienen según las reivindicaciones 1-3 para su uso en quimioprevención.