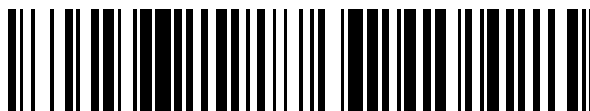


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 709 653**

51 Int. Cl.:

A61K 36/9066 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.05.2005** **PCT/IN2005/000176**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.06.2018** **WO06129323**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2005** **E 05750098 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018** **EP 1890546**

54 Título: **Método para mejorar la biodisponibilidad de la curcumina**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
17.04.2019

73 Titular/es:

ANTONY, BENNY (100.0%)
P.O. Box 126 Bank Road
Aluva 683 101 Kerala State, IN

72 Inventor/es:

ANTONY, BENNY

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 709 653 T3

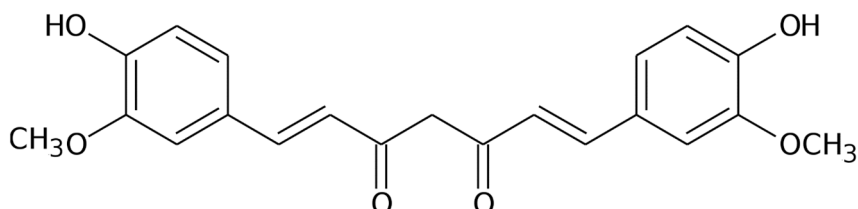
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Método para mejorar la biodisponibilidad de la curcumina

Campo técnico

Esta invención se refiere a una composición de curcumina con el aceite esencial de turmérico, con Ar-turmerol como constituyente principal, para potenciar la biodisponibilidad de la curcumina y aumentar la actividad biológica de la curcumina. Dicha biodisponibilidad potenciada ha sido demostrada en voluntarios humanos.



La curcumina [1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona es un pigmento amarillo principal de turmérico (o cúrcuma), una especie usada habitualmente, derivada del rizoma de la hierba *Curcuma longa* Linn. En el Subcontinente Indio y en el Sudeste Asiático, el turmérico se ha usado tradicionalmente como tratamiento para inflamación, heridas cutáneas y tumores. La actividad clínica de la curcumina todavía debe ser confirmada; sin embargo, en modelos animales preclínicos, la curcumina ha demostrado propiedades quimiopreventivas de cáncer, antineoplásicas y antiinflamatorias (para una revisión, véase Kelloff, G.I. et al, *J. Cell Biochem.*, 1996, 265: 54-71). Especialmente interesante es su capacidad para prevenir la formación de lesiones premalignas y malignidades intestinales inducidas por carcinógeno en ratas (Rao, C.V. et al, *Cancer Res.*, 1995, 55: 259-66; Kawamori, T. et al, *Cancer Res.*, 1999, 59: 597-601), y en el ratón de neoplasia múltiple (Min/+) (Mahmood, N.N. et al, *Carcinogenesis*, 2000, 31: 921-27), un modelo genético de la enfermedad humana de poliposis adenomatosa familiar. La curcumina actúa como recolector de especies de oxígeno tales como el radical hidroxilo, el anión superóxido y el oxígeno singlete (Subramanian, M. et al, *Mutat. Res.*, 1994, 311: 249-55; Tonnesen, H.H. et al, *Int. J. Pharm.*, 1992, 87: 79-87; Reddy, A.C.P. et al, *Mol. Cell Biochem.*, 1994, 137: 1-8) e interfiere con la peroxidación de lípidos (Donatus, I.A., *Biochem. Pharmacol.*, 1990, 39: 1869-75; Sharma, S.C. et al, *Biochem. Pharmacol.*, 1972, 21: 1210-14). La curcumina suprime una serie de elementos clave de los mecanismos de inducción de señal celular pertinentes al crecimiento, la diferenciación y transformaciones malignas. Entre los eventos de señalización inhibidos por la curcumina se encuentran las proteína quinasas (Liu, J.V. et al, *Carcinogenesis*, 1993, 14: 857-61), activación de c-Jun/AP-1 (Huang, T.S. et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1991, 88: 5292-96), biosíntesis de prostaglandinas (Huang, M-T. et al, en L.W. Battenberg (ed.) *Cancer Chemoprevention*, CRC Press, Boca Raton, 1992, pág. 375-91) y la actividad y expresión de la enzima ciclooxigenasa-2 (Huang, M. T., et al., *Cancer Res.*, 1991, 51: 813-19; Zhang, F. et al, *Carcinogenesis*, 1999, 20: 445-51). Esta última propiedad está mediada probablemente por la capacidad de la curcumina para bloquear la activación del factor de transcripción NF-κB a nivel del complejo de señalización quinasa/IKKα/β inductor de NF-κB (Plummer, S. et al, *Oncogene*, 1999, 18: 6013-20).

La curcumina inhibe directamente la ciclooxigenasa-2 y también inhibe la transcripción del gen responsable de su producción. Las ciclooxigenasas (COX) catalizan la síntesis de prostaglandinas (PGs) a partir de ácido araquidónico. Existen dos isoformas de COX, designadas COX-1 y COX-2. COX-1 se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos y parece ser responsable de funciones de limpieza (Funk, C.D. et al, *FASEB J.*, 1991, 5: 2304-12) mientras que COX-2 no es detectable en la mayoría de los tejidos normales, pero es inducida por oncogenes, factores de crecimiento, carcinógenos y promotores tumorales (Subbaramiah, K. et al, 1996, *Cancer Res.*, 1996, 56: 4424-29; DuBois, R.N. et al, *J. Clin. Invest.*, 1994, 93: 493-98; Kelley, D.J. et al, *Carcinogenesis*, 1997, 18: 795-99). Varios mecanismos diferentes son responsables del enlace entre la actividad de COX-2 y carcinogénesis.

Antecedentes de la técnica

La curcumina no es simplemente una alternativa a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs), sino que también tiene propiedades antiinflamatorias y quimiopreventivas de cáncer. Esto es debido a que la COX es una enzima bifuncional con actividad ciclooxigenasa y peroxidasa. Aparte de ser importante para la síntesis de PG, la función de peroxidasa contribuye a la activación de procarcinógenos. Por lo tanto, la imposibilidad de los NSAIDs para inhibir la función peroxidasa de COX limita potencialmente su eficacia como agentes anticancerígenos. La curcumina, por el contrario, regula a la baja los niveles de COX-2 y reduce de este modo tanto la actividad de ciclooxigenasa como la peroxidasa de la enzima.

La curcumina está entre los pocos agentes que bloquean las rutas de COX y LOX (lipoxigenasa) de inflamación y carcinogénesis mediante la modulación directa del metabolismo del ácido araquidónico. En un estudio para evaluar el efecto de la curcumina en el metabolismo y la acción de ácido araquidónico en epidermis de ratón, se observó que la aplicación tópica de la curcumina inhibió la inflamación auricular inducida por ácido araquidónico en ratones. (Huang, M.T., et al., *Cancer Res.*, 1988, 48: 5941-46; 1991, 51: 813-19). La curcumina inhibió (10 μM) la conversión de ácido

araquidónico a ácido 5- y 8-hidroxi-eicosatetraenoico en un 60% y un 51%, respectivamente (mecanismo LOX) y el metabolismo a PGE₂, PGF₂ y PGD₂ en un 70%, 64% y 73%, respectivamente (mecanismo COX). En otro estudio, la administración en dieta de un 0,2% de curcumina a ratas inhibió la carcinogénesis de colon inducida por azoximetano y disminuyó los niveles en colon y tumorales de fosfolipasa A₂, fosfolipasa C γ 1 y PGE₂ (Rao, C.V. et al., *Cancer Res.*, 1995, 55: 259-66). En este estudio, la curcumina en dieta también redujo la actividad enzimática en la mucosa del colon y en tumores para la formación de PGE₂, PGF_{2 α} , PGD₂, 6-ceto-PGF_{2 α} y tromboxano B₂ a través del sistema COX y también se inhibió la producción de ácido 5(S)-, 8(S)-, 12(S)- y 15(S)-hidroxi-eicosatetraenoico a través de la ruta LOX.

A pesar de su impresionante abanico de bioactividades beneficiosas, la biodisponibilidad de la curcumina en animales y el hombre es baja. En roedores, la curcumina presenta una baja biodisponibilidad sistémica tras dosificación p.o. (Ireson, C.R. et al, *Cancer Res.*, 2001, 41: 1058-64) lo que puede estar relacionado con su absorción inadecuada y un rápido metabolismo. La biodisponibilidad de la curcumina también puede ser baja en humanas, como se desprende de los resultados de un estudio piloto reciente de un extracto de turmérico estandarizado en pacientes de cáncer colorrectal (Sharma, R.A. et al, *Clin. Cancer Res.*, 2001, 7: 1834-1900). Evidencias indirectas sugieren que la curcumina es metabolizada en el tracto intestinal. La curcumina es sometida a una O-conjugación metabólica para formar glucurónido de curcumina y sulfato de curcumina, y a una bio-reducción para dar tetrahidrocurcumina, hexahidrocurcumina y hexahidrocurcuminol en ratas y ratones *in vivo* (Pan, M.H. et al, *Drug Metabol. Dispos.*, 1999, 27: 486-94; Asai, A., et al, *Life Sci.*, 2000, 67: 2785-93), en suspensiones de hepatocitos de humano y rata (Ireson et al, *loc. cit.*) y en intestino humano y de rata (Ireson, C.R. et al, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2002, 11: 105-11). La conjugación y reducción metabólicas de la curcumina se dio más en tejido intestinal humano que de rata. Se ha sugerido que el tracto intestinal desempeña un papel importante en la disposición metabólica de la curcumina. Esto se basa predominantemente en experimentos en los que se incubó curcumina marcada con [3H] con sacos intestinales de rata (Ravindranath, V. y Chandrasekhara, N., *Toxicology*, 1981, 20: 251-57). Esto fue confirmado posteriormente fracciones intestinales de humanos y ratas. La mucosa intestinal, así como tejido hepático y renal de la rata, puede glucurodinar y sulfatar la curcumina, en vista del análisis de cantidades diferenciales de curcumina presentes antes y después del tratamiento de extractos de tejido con enzimas hidrolizantes de conjugado (Asai et al, *loc cit*). De esta manera, el metabolismo intestinal contribuye sustancialmente al rendimiento metabólico global generado a partir de curcumina *in vivo*. En fracciones intestinales humanas, la conjugación con ácido sulfúrico o glucurónico activados fue mucho más abundante, mientras que la conjugación en tejidos hepáticos humanos fue menos extendida que en los tejidos de rata (Ireson, C.R., et al, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2002, 11: 105-11).

Aunque la curcumina administrada p.o. tiene una baja biodisponibilidad y solo se observan niveles bajos, o no detectables, en sangre (Perkins, S. et al., *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2002, 11: 535-40), esta ruta de administración inhibe la carcinogénesis de piel e hígado inducida químicamente (Limtrakul, P., et al., *Cancer Lett.*, 1997, 116: 197-203; Chiang, S.E. et al., *Carcinogenesis*, 2000, 21: 331-35). La administración oral de curcumina también inhibe el inicio de tumores mamarios y pituitarios inducidos por radiación (Inano, H. et al., *Carcinogenesis*, 2000, 21: 1835-41; *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2002, 52: 212-23; *ibid*, 2002, 53: 735-43). De forma similar, en un estudio para determinar los niveles de curcumina en el recto, una dosis diaria de 3,6 g de curcumina logra niveles farmacológicamente efectivos en el recto con una distribución que se puede despreciar de curcumina fuera del intestino (Garcea, G. et al., *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.*, 2005, 14: 120-25). Previamente, Shobha et al (*Planta Med.*, 1998, 64: 353-56) habían observado que la administración de piperina junto a la curcumina potencia la biodisponibilidad de la curcumina. Sin embargo, el nivel de mejora solo fue modesto no pudiéndose detectar curcumina después de 3 horas, incluso cuando se suplementó con piperina.

Los métodos y composiciones conocidos en la técnica incluyen los descritos en los documentos UA 2002/0136786, US 6235287, US 5861415 y WO 03/051380. El documento US 2002/0136786 describe un método para efectuar una desintoxicación de humo en un humano usando una composición que se prepara con cantidades efectivas de extracto supercrítico y extracto hidroalcohólico de turmérico. El documento US 6235287 describe determinados diterpenos para uso como medicamentos y extractos o concentrados de la planta *Curcuma amada* que los contienen. El documento US 5861415 describe una composición que contiene tres curcuminoides, es decir, curcumina, demetoxi curcumina y bis demetoxi curcumina, extraídos de raíces de turmérico. El documento WO 03/051380 describe un método para producir extracto soluble en lípidos, denominado aceite de cúrcuma, con un rendimiento elevado.

Descripción de la invención

De esta manera, a fin de derivar los beneficios completos de la administración de curcumina a sujetos humanos, es necesario explorar las rutas y los medios para potenciar su biodisponibilidad. La presente invención supone un esfuerzo en esta dirección. Se observó que cuando se añade aceite esencial de turmérico a curcumina, la biodisponibilidad de la curcumina se ve potenciada significativamente. Por consiguiente, se proporciona un método para fabricar una composición que consiste esencialmente de curcumina mezclada con una porción adecuada de turmerona (el principal componente del aceite esencial de turmérico) según la reivindicación 1, y una composición preparada mediante el método de la reivindicación 1. Dicha composición se administró a 9 humanos voluntarios y se tomaron muestras de sangre a tiempo cero y después a intervalos de 1 hora o de media hora, hasta las 8 horas. Se observó una absorción máxima a las 3 horas de la ingestión, y el consumo de dicha composición dio como resultado niveles de curcumina de 5 a 16 veces superiores a los de la curcumina sola.

Previamente Shobha et al. (*Planta Med.*, 1998, 64: 353-56) había observado que la administración de piperina junto con curcumina potencia la biodisponibilidad de la curcumina. Sin embargo, el nivel de mejora solo fue modesto, no pudiéndose detectar curcumina después de 3 horas incluso cuando se suplementó con piperina. Con turmerona como adyuvante, como en la presente invención, el máximo de absorción se produjo a las 3 horas y persistió en niveles bajos al menos hasta las 8 horas, no se hicieron medidas a tiempos superiores. La invención se refiere a un producto para potenciar la biodisponibilidad de la curcumina mezclando una porción adecuada del aceite esencial obtenido de turmerón, que comprende turmerona con los curcuminoides aislados a partir de turmerón desaceitado mediante extracción con disolventes, en donde la relación másica del curcuminóide respecto al aceite esencial de turmerón oscila entre 3:1 y 99:1. Para este propósito, el aceite esencial de turmerón fue aislado mediante métodos convencionales de destilación con vapor para aislar los aceites esenciales, y es bien conocido en la técnica. La curcumina se aísla del turmerón desaceitado mediante extracción con disolventes. Los disolventes adecuados para este propósito incluyen acetona, hexano, acetato de etilo, diclorometano, cloroformo, etc. La extracción se lleva a cabo de forma conveniente a temperaturas moderadas (40-55°C), y el disolvente es eliminado parcialmente para dar lugar a un concentrado que contiene 30-60% de sólidos. Esta disolución es enfriada para obtener cristales de curcumina que son aislados mediante cualquier método adecuado, tal como filtración o centrifugación. El análisis de este producto indicó un contenido de curcumina del 95%. La curcumina y los aceites volátiles de curcumina se mezclan para obtener un producto uniforme. La relación de curcumina a aceite puede variarse entre 3:1 y 99:1, preferiblemente en una relación de 85:15. Una relación más preferida es 95:5. Se prepararon cápsulas de gelatina que contenían 500 mg de la mezcla. De forma similar, se prepararon cápsulas de curcumina sin aceite esencial.

Para el estudio se seleccionaron nueve voluntarios humanos sanos, de edades comprendidas entre 25 y 45 años. Se les administró curcumina y la composición de la invención en cápsulas con una dosis de 50 mg/kg de peso corporal. Se les aconsejó tomar la curcumina en primer lugar. Se tomaron muestras de sangre a tiempo cero y periódicamente a intervalos de 1 hora o media hora durante 8 horas. Tras un periodo de descanso de una semana, se siguió el mismo protocolo con la composición de la invención. La sangre entera fue extraída exhaustivamente con acetato de etilo. Las recuperaciones oscilaron entre 80,12 y 86,49. El extracto de acetato de etilo fue analizado mediante HPLC en una columna RP-C₁₈ (25 x 4,5 mm) usando metanol como disolvente y detección UV a 420 nm. El caudal de eluyente fue de 1 mL/min.

En la siguiente Tabla se incluye un resultado típico.

Tiempo (h)	Contenido de curcumina en sangre (ng/g)	
	Curcumina	Composición de la invención
0,0	0,0	0,0
0,5	3,17	7,85
1,0	7,57	6,23
1,5	4,42	4,84
2,0	13,81	11,95
2,5	9,61	19,22
3,0	5,67	92,59
4,0	8,42	24,33
6,0	1,62	8,43
8,0	1,11	5,09

Los resultados también se representan gráficamente en la Fig. 1. La absorción máxima de curcumina se produjo a las 3 h y en el caso de la composición de la invención, la curcumina persistió en sangre en pequeñas cantidades hasta las 8 h, punto a partir del cual no se hicieron más medidas. Esto es significativo. En el máximo de absorción, la mejora de la biodisponibilidad osciló entre las 9 personas entre 5 y 16 veces, con un valor medio de 10,62 veces.

La composición de la invención presenta el beneficio adicional de que los componentes del aceite esencial son activos en sí mismos (por ejemplo, ver Yue, A. et al., *Int. J. Mol. Med.*, 2002, 9: 481-84; Jayaprakasha, G.K. et al., *Z. Naturforsch.*, 2002, 57: 828-35) y por tanto es de esperar que potencien sinérgicamente la bioactividad de la curcumina.

REIVINDICACIONES

1. Un método para preparar una composición que comprende las etapas de:

(a) aislar el aceite volátil de turmerico que comprende turmerona mediante destilación con vapor;

(b) aislar un extracto que comprende curcumina a partir del turmerico desaceitado mediante extracción con disolvente;

(c) eliminar parcialmente el disolvente del extracto que comprende curcumina para obtener un concentrado que contiene de 30 a 60% de sólidos;

(d) enfriar el concentrado para obtener cristales de curcumina;

(e) aislar los cristales de curcumina para obtener un producto que comprende un 95% de curcumina; y

(f) mezclar el aceite volátil de turmerico obtenido en la etapa (a) y el producto de la etapa (e) para obtener un producto uniforme, en donde la relación másica de curcumina respecto al aceite volátil puede variarse entre 3:1 y 99:1.

2. El método de la reivindicación 1, en donde el disolvente usado en la extracción con disolvente de la etapa (b) se selecciona del grupo que consiste en acetona, hexano, acetato de etilo, diclorometano o cloroformo.

3. El método de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la extracción con disolvente de la etapa (b) se lleva a cabo a una temperatura de 40 a 55°C.

4. El método de la reivindicación 1, en donde el aislamiento de cristales de curcumina de la etapa (e) se lleva a cabo mediante filtración o centrifugación.

5. El método de la reivindicación 1, en donde en la etapa (f) la relación másica de la curcumina respecto al aceite esencial de turmerico es de 95:5.

6. El método de la reivindicación 1, en donde la relación másica de la curcumina respecto al aceite esencial de turmerico es de 85:15.

7. Una composición preparada mediante el método de la reivindicación 1, que consiste esencialmente en una mezcla de curcumina con una porción adecuada de turmerona.

8. La composición de la reivindicación 7 para uso en medicina para potenciar la biodisponibilidad de curcumina.

9. Una cápsula de gelatina que comprende 500 mg de la composición de la reivindicación 7.

